

Aus dem Institut für Parasitologie und parasitäre Krankheiten der Tiere
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. G. Lämmler

Über die fasciolicide Wirksamkeit von Rafoxanide
und ihre Auswirkungen auf die pathophysiologischen
Veränderungen des Blutes bei **Fasciola hepatica**-
infizierten Schafen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Jürgen Thyssen
Tierarzt aus Bonn

Gießen 1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545919_0011

Aus dem Institut für Parasitologie und parasitäre Krankheiten der Tiere
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. G. Lämmler

Über die fasciolicide Wirksamkeit von Rafoxanide
und ihre Auswirkungen auf die pathophysiologischen
Veränderungen des Blutes bei **Fasciola hepatica**-
infizierten Schafen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Jürgen Thyssen
Tierarzt aus Bonn

Gießen 1970

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät in Gießen

Dekan: Prof. Dr. H. Tillmann

Berichterstatter: Prof. Dr. G. Lämmner

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Juli 1970



Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literaturübersicht	3
A) Zur Entwicklung und Wanderung von <u>Fasciola hepatica</u> im Endwirt	3
B) Zur Physiologie des Blutes beim Schaf	10
C) Zur Pathophysiologie des Blutes bei der Fasciolose des Schafes	15
D) Zur Pathophysiologie des Blutes bei der Fasciolose des Rindes	21
E) Neuere Ergebnisse chemotherapeutischer Untersuchungen bei der Fasciolose der Schafe	22
F) Chemotherapeutische Untersuchungen bei der Fasciolose der Ratte	35
III. Eigene Untersuchungen	37
A) Material und Methode	37
1. Versuchstiere	37
2. Infektion der Versuchstiere	39
3. Untersuchungsmethoden	40
4. Chemotherapeutische Untersuchungen	43
B) Ergebnisse	45
1. Die chemotherapeutische Wirksamkeit von Rafoxanide	45
2. Einfluß der Chemotherapie auf die pathophysiologischen Veränderungen des Blutes beim Schaf	51
IV. Diskussion	74
V. Zusammenfassung	88
VI. Literaturverzeichnis	89

I. EINLEITUNG

Die weltweite Verbreitung und besondere wirtschaftliche Bedeutung des Befalls der Wiederkäuer mit dem großen Leberegel Fasciola hepatica (LINNÉ, 1758) ist schon seit Jahrzehnten Anlaß, neue, besser wirksame fasciolicide Substanzen zu entwickeln. Umfangreiche chemotherapeutische Forschungsarbeiten haben insbesondere in den letzten 12 Jahren neue Erkenntnisse gebracht und zur Entdeckung einer Reihe hochwirksamer Verbindungsklassen geführt. Die Einführung der fascioliciden Verbindungen Hexachlorophen, 1,4-Bis-trichlormethylbenzol, Menichlopholan, Nitroxynil, Oxyclozanide, Ph 1882 und Clioxanide als Leberegelmittel in die tierärztliche Praxis kann als ein bedeutender Erfolg dieser Bemühungen angesehen werden.

Das erklärte Ziel, die Entwicklung eines toxikologisch unbedenklichen, in möglichst niedriger Dosierung auch gegen die Jugendstadien von Fasciola hepatica wirksamen Medikamentes mit hoher therapeutischer Sicherheit und günstiger chemotherapeutischer Breite, blieb aber bisher unerreicht.

Im Rahmen ausgedehnter experimenteller Untersuchungen auf dem Gebiet der Chemotherapie der Trematoden sowie breit angelegter Studien über das Wirt-Parasit-Verhältnis bei Helmintheninfektionen im Institut für Parasitologie und Parasitäre Krankheiten der Tiere der Justus Liebig-Universität Gießen wurde daher in der vorliegenden Arbeit das Präparat Rafoxanide (3,5-Dijod-3'-chlor-4'-(p-chlorphenoxy)-salicylanilid), ein neuentwickeltes Leberegelmittel der Firma Merck, Sharp & Dohme, im Schafversuch auf seine Wirksamkeit gegen jugendliche und geschlechtsreife Stadien des großen Leberegels, Fasciola hepatica, geprüft. Dabei wurde einigen durch die Leberegelinfektion hervorgerufenen pathophysiologischen Veränderungen des

Blutes besondere Aufmerksamkeit geschenkt und die Beeinflußbarkeit der Leberfunktion bei der Fasciolose der Schafe durch eine chemotherapeutische Behandlung eingehender untersucht.

II. LITERATURÜBERSICHT

A) Zur Entwicklung und Wanderung des Leberegels im Endwirt

1. Schaf

Der gleichzeitigen Entdeckung des Lebenszyklus von Fasciola hepatica außerhalb des Säugetierwirtes durch LEUCKART und THOMAS in den Jahren 1882 und 1883 folgten lange Zeit umfangreiche Untersuchungen über den Wandlungsweg des großen Leberegels im Endwirt. In vielseitigen experimentellen Studien von SINITSIN (1914), SHIRAI (1927), SCHUMACHER (1938) und anderen Autoren konnten neue wertvolle Erkenntnisse über die Biologie von Fasciola hepatica gewonnen und die Entwicklung der Parasiten weitgehend geklärt werden. Die diesbezüglichen Ergebnisse haben inzwischen in breitem Rahmen Eingang in die Lehr- und Handbücher gefunden und wurden von zahlreichen Autoren unter Hinzufügung eigener Befunde in zusammenfassenden Darstellungen referiert (ERHARDT et al., 1964; TAYLOR, 1964; KENDALL und PARFITT, 1962; DAWES und HUGHES, 1964; SINCLAIR, 1967; BORAY, 1969 u. a.).

Nach Aufnahme der Metacercarien von Fasciola hepatica durch den Endwirt erfolgt die Excystierung in zwei Stadien. DIXON (1966) unterscheidet zwischen "activation", der Bewegungsphase des Leberegels in der Cyste, und "emergence", dem Ausschlüpfen. Vermutlich erfolgte die "activation" im Pansen und die "emergence" im Dünndarm cranial der Gallengangspapille. Nach Beobachtungen von KENDALL und PARFITT (1962) bei der Fasciola hepatica-Infektion des Schafes durchdringen die ersten jungen Leberegel etwa 72 Stunden nach der Infektion die Darmwand. Nach einer Wanderung durch die Bauchhöhle erreichen sie innerhalb von 90 Stunden nach der Infektion die Leber. Bevor der seröse Überzug dieses Organes durchbohrt wird, verweilen die jungen Leberegel kurze Zeit auf seiner Oberfläche. Die genaue

Zeitbestimmung der Wanderphase im Leberparenchym ist unbekannt. Jedoch beginnt etwa 40 Tage post infectionem die Durchbohrung und Besiedlung der kleinen Gallengänge, und etwa zwei Wochen später sind dort die ersten geschlechtsreifen Leberegel nachweisbar. In den Untersuchungen von SINCLAIR (1962) und DIXON (1964) konnten beim Schaf die ersten Eier des großen Leberegels Fasciola hepatica 56 bzw. 63 Tage p. i. koprologisch ermittelt werden.

Für die Durchführung und Auswertung chemotherapeutischer Versuche ist die Sektion der Leber und in besonderem Maße die Isolierung der Leberegel und die Feststellung ihrer Ansitzrate von entscheidender Bedeutung. Um einen genauen Überblick über die Anzahl der Leberegel zu gewinnen, wird - nach SINCLAIR (1962) - die Leber vorsichtig aus der Bauchhöhle herauspräpariert und in einer Schale untersucht. Nach der Eröffnung der großen Gallengänge mit einer Schere werden die dort liegenden Leberegel mit einer Pinzette aufgesammelt. Danach wird das Organ mit den Fingern gequetscht, um weitere Leberegel nun auch aus den kleineren Gallengängen herauszudrücken. Nachdem die Leber in kleine Würfel zerschnitten ist, werden sie in ein mit Wasser gefülltes Gefäß gelegt, so daß noch vorhandene Parasiten auswandern können. Nach BORAY (1967) wird die ganze Leber in kleine Würfel zerlegt, die dann in physiologischer Kochsalzlösung zu einer breiähnlichen Masse zerkleinert werden. Nach einigen Stunden wird dieser Brei dekantiert, die Leberegel gesammelt und gezählt. Aufgrund von Untersuchungen, die insbesondere von BORAY (1967) aber auch von SINCLAIR (1962), HUGHES (1963) und KENDALL und PARFITT (1962) durchgeführt wurden, sind bei einer einmaligen aber verschieden starken Infektion die in Tabelle 1 wiedergegebenen Ansitzraten zu erwarten.

Tabelle 1: Leberegels-Ansatzrate bei Infektionen der Schafe
mit 200 - 10000 Metacercarien von Fasciola hepatica

Schafe	Anzahl der Metacercarien	Durchschn. Anzahl der Leberegels	Ansatz- rate in %	Wochen post infect.	Autoren
69	200	102,13	51,1	12	BORAY
15	500	204,50	40,9	12	(1967)
12	1000	482,20	48,0	12	
16	2000	709,80	35,9	12	
28	4000	1359,00	33,9	9,4 x)	
6	6000	1641,80	27,4	8,9 x)	
2	10000	3444,00	34,4	8,5 x)	
2	600	210,00	35,0	12	SINCLAIR (1962)
10	200	78,2	39,1	12	HUGHES (1963)
7	3000	782,0	26,4	12	KENDALL und PARFITT (1962)

Auch die Größe der isolierten Leberegels spielt für die spätere Auswertung chemotherapeutischer Versuche eine gewisse Rolle. Über die entsprechenden Größenverhältnisse bei Schafen berichteten DOW et al. (1968) nach Verabreichung von Infektionsdosen von 100 bis 650 Metacercarien von Fasciola hepatica sowie BORAY et al. (1967) bei Infektionsraten von 200 Cysten pro Schaf (Tabelle 2).

x) zum angegebenen Zeitpunkt gestorben

Tabelle 2: Größenverhältnisse junger und geschlechtsreifer Leberegel bei der Fasciola hepatica-Infektion des Schafes

Wochen p.i.	Länge der Leberegel in mm	
	100 - 650 Cysten	200 Cysten pro
	pro Schaf	Schaf
	DOW et al. (1968)	BORAY et al. (1967)
2	1,0	
3	2,5	
4	4,0	2,8
5	4,8	
6	7,0	3,1
8	9,5	8,9
9		
10	12,0	10,2
12	18,0	13,7
14		16,4

2. Albinoratte

Seit der Einführung der Albinoratte als Endwirt für Fasciola hepatica durch LÄMMLER im Jahre 1959 hat dieses Versuchstier seine große Nützlichkeit für chemotherapeutische Untersuchungen im Laboratorium vielseitig unter Beweis gestellt. In experimentellen Studien über die Entwicklung des großen Leberegels bei der Albinoratte (Wistar-Stamm) beobachtete THORPE (1965) zwei Stunden nach der Infektion die ersten punktförmigen Blutungen in der Dünndarmschleimhaut. Bei zwei von sechs Ratten befanden sich bereits zu diesem Zeitpunkt je ein Leberegel in der Bauchhöhle der Versuchstiere. Nach 24 bis 48 Stunden post infectionem war den meisten Leberegeln bei allen sechs Ratten die Durchbohrung des Dünndarms gelungen.

Histologische Untersuchungen der 24-Stunden-Gruppe zeigten noch keine Invasionserscheinungen durch die Wanderformen von Fasciola hepatica auf der Oberfläche der Leber. 48 Stunden nach der Infektion konnten jedoch schon kleine Verletzungen des serösen Leberüberzuges festgestellt werden, die von Durchbohrungsversuchen der Egel verursacht worden waren. Nach einer Woche waren die jungen Leberegel etwa 1 - 2 mm ins Leberparenchym vorgedrungen. Untersuchungen von der 4. bis zur 7. Woche p. i. waren durch späte Wander- und erste Gallengangsstadien gekennzeichnet. Bei zwei Ratten, die 4 Wochen p. i. getötet wurden, konnten bereits kleine Leberegel in den Gallengängen gefunden werden. Jedoch erreichten alle Leberegel bis zur 7. Woche p. i. noch keine Geschlechtsreife.

LÄMMLER (1959) wies in seinen Untersuchungen auf den hohen Infektionserfolg, die ungewöhnlich leicht festzustellende Befallsdiagnose, Befallsstärke und somit auf die besondere Eignung der Albinoratte als Modell für chemotherapeutische Untersuchungen hin. Die geschlechtsreifen Leberegel sind bei diesem Versuchstier fast ausschließlich in einer "ampullenförmigen Erweiterung" des Ductus choledochus zu finden, die je nach Ansitzrate, erbsen- bis bohngroß, ein oder mehrere Leberegel enthalten kann.

Die Ansitzrate betrug nach LÄMMLER bei einer Infektionsdosis von 20 Metazercarien von Fasciola hepatica im Durchschnitt 6 - 7, bei einer halb so starken Infektion 2 - 3 Leberegel pro Tier. Bei niedrigen Ansitzraten kann die Größe der Leberegel die bei Kaninchen erreichen. THORPE (1965) infizierte Ratten mit 5, 20, 40, 80 und 100 Cysten von Fasciola hepatica und fand 10 Wochen später Ansitzraten von 1 - 3, 4 - 7 und 10 - 15 und nach 6 Wochen solche von 23 - 32 und 15 - 37 Leberegeln pro Tier.

3. Kaninchen

Analoge Untersuchungen über die Biologie von Fasciola hepatica führte URQUHART (1956) beim Kaninchen durch. Er beschrieb in Versuchen mit 50 Tieren, von denen je vier in wöchentlichen Intervallen von der 2. bis 10. Woche p. i. getötet wurden, die Entwicklung und Wanderung des Leberegels bei diesem Versuchstier. Cremefarbige, punkt- oder streifenförmige Verletzungen des serösen Leberüberzuges beobachtete er schon zwei Wochen p. i. In histologischen Untersuchungen wiesen sich diese als Eintrittsporten und Wanderwege junger Leberegel aus. In der 5. Woche befanden sich die ersten Leberegel in den kleineren Gallengängen, die innerhalb von drei Wochen, also mit der 8. Woche p. i., alle Parasiten erreicht hatten. Verschiedentlich wurden nun auch schon Eier nachgewiesen, wie dies HUGHES (1959) 54 Tage p. i. beobachtet hatte.

Als einfache und sichere Methode zur Infektion der Kaninchen empfahl URQUHART die Verabreichung der encystierten Cysten auf Cellophan und die Verfütterung eines entsprechenden Cellophanstückchens mit Kohl. Mit Hilfe dieser Methode erzielte er bei einer Infektionsdosis von 50 (7 Tage alten) Metacercarien von Fasciola hepatica eine durchschnittliche Ansitzrate von $18,6 \pm 8,8$ Leberegel (37,2 %). In vier weiteren Untersuchungen lagen die Werte bei 38,8 % wiedergefundener Leberegel. ONO und ISODA (1952) und HUGHES (1963) konnten 9,0 % bzw. 30,3 % der verabreichten Metacercarien als reife Leberegel wiederfinden.

Über die von der Infektionsrate und -dauer abhängige Größe von Fasciola hepatica berichteten KENDALL et al. (1967). Sie infizierten Kaninchen mit 10 und 20 Metacercarien von Fasciola hepatica. Die Sektionen wurden 12 und 20 Wochen p. i. bzw. 8 Wochen p. i. durchgeführt. Dabei wurden im einzelnen folgende Werte ermittelt:

Wochen p. i.	Anzahl Metacerc.	Durchschn. Ansitzrate Anzahl LE	Länge in mm in %	
12	10	3,7	37,0	14,7
20	10	4,9	49,0	17,0
8	20	7,2	36,0	11,9

Auf der Basis breit angelegter chemotherapeutischer Untersuchungen an der Fasciola hepatica-Infektion des Kaninchens zeigte LÄMMLER (1955) dessen besondere Eignung als Versuchstier auf. Er bewertet die Wirkung von Präparaten dadurch, daß er den Gesamtbefall der Leber mit dem großen Leberegel den mehr oder weniger stark geschädigten Parasiten zwei Tage nach der Behandlung gegenüberstellt. Abhängig von der Wirksamkeit eines Medikamentes läßt sich eine am caudalen Ende des Leberegels einsetzende und nach cranial fortschreitende Nekrose feststellen. Aus dem Anteil dieser Nekrose kann man eine "Nekroseziffer" festlegen, die von 0,1 bis 1,0 den Gewebszerfall bei jedem einzelnen Leberegel berücksichtigt. Die Summe dieser Nekroseziffern ergibt die Gesamtschädigung der Parasiten durch das Präparat. Wird die bei der Sektion errechnete Gesamtschädigung zur Gesamtzahl der Leberegel in Bezug gesetzt, so erhält man die Wirksamkeit des Mittels in Prozent:

$$\frac{\text{Gesamtschädigung}}{\text{Gesamtzahl Leberegel}} \cdot 100 = \text{Wirkung in \%}$$

B) Zur Physiologie des Blutes beim Schaf

In den vorliegenden Untersuchungen über die chemotherapeutische Wirksamkeit von Rafoxanide bei der Fasciolose der Schafe sollen die Auswirkungen der Behandlung auf die pathophysiologischen Veränderungen im Blut der Tiere einer vergleichenden Analyse unterzogen werden. Hierzu ist es notwendig, die bisher bekannten physiologischen Daten von Hämatokrit, Hämoglobin, Gesamtprotein (GP.), die physiologischen Werte von Albumin (Alb.) und Globulin (Glob.) im Serum und deren Quotient (AGQ) sowie den Gehalt an leberspezifischen Enzymen wie Glutamat-Oxalat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), Laktat-Dehydrogenase (LDH), LDH-1-Isoenzym (α -HBDH) und Sorbit-Dehydrogenase (SDH) im Serum von Schafen zusammenzufassen. Aufgrund der Vielzahl der Einzeluntersuchungen werden die Ergebnisse in tabellarischer Übersicht (Tabelle 3 - 6) dargestellt.

Im Gegensatz zu Hund, Pferd und Rind wurden bei Schafen bisher nur wenig breit angelegte Untersuchungen über die Serumaktivität verschiedener Enzyme bei klinisch gesunden Tieren durchgeführt. Erhebliche Schwierigkeiten ergeben sich insbesondere bei einem Vergleich der in den einzelnen Arbeiten gefundenen Werte, da nur für die gebräuchlichsten Methoden die in der nachstehenden Tabelle aufgeführten Faktoren für die Umrechnung in Internationale Einheiten zur Verfügung stehen.

Faktoren zur Umrechnung in Internationale Einheiten nach SCHMIDT und SCHMIDT (1966):

Einheit nach	Umrechnungsfaktor für mU/ml
BÜCHER et al.	18,2
WROBLEWSKI et al.	0,48
AMELUNG und HORN	16,7
HOLZER und GERLACH	0,91

Tabelle 3: Physiologische Hämatokrit- und Hämoglobin-Mittelwerte bei gesunden Schafen

Tierzahl und Alter	Hämatokrit in %	Hämoglobin g/100 ml	Autoren
100 - 114 geschlechts- reif	30,5 (22-39)	12,4 (8,6-15,8)	HOLMAN (1944)
Jährlinge	37,0	12,23	BECKER u. SMITH (1950)
Mutterschafe	40,38 (32,3-47,2) 38,35 (31,3-45,2)	13,4 (10,3-16,0) 12,3 (10,4-14,7)	TODD et al. (1952)
194 Jähr- linge	31,23	9,62	GRUNSELL (1955)
200 Mutter- schafe und Lämmer	35,0 $\pm$ 1	10,78	HACKETT et al. (1957)
983 Schafe (11 Rassen) dt. Schw.k. Fleischschaf	34,44 $\pm$ 0,14 33,89 $\pm$ 0,27		MEYER (1963)
9 Monate alte Tiere	34,1	9,5	SCHALM (1965)
8 Monate alte Tiere	31,8 $\pm$ 0,5	10,9 $\pm$ 0,2	ULLREY et al.
12 Monate alte Tiere	33,8 $\pm$ 0,5	11,8 $\pm$ 0,2	(1965)

Tabelle 4: Gesamtproteingehalt, Albumin- und Globulin-Werte
von Seren gesunder Schafe

Anzahl Tiere	Alter und Geschlecht	GP. in g %	Alb. in %	Glob. in %	AGQ.	Autoren
10	Schlacht- tiere	$8,0 \pm 0,4$	42,0	58,0	0,72	BOGUTH (1953)
		5,5	53,6	46,4	1,16	GEINITZ (1954)
8	4-8 Mon. Lämmer		46,1	53,9	0,86	KENNETH und
16	8-12 Mon. Lämmer		50,4	49,6	1,02	KUTTLER (1959)
	3 Mon. ♂♂	$5,65 \pm 0,41$	60,3	39,7	1,52	PERK u.
	3 Mon. ♀♀	$5,78 \pm 0,31$	61,7	38,3	1,61	LOBL
	10-12 Mon. ♂♂	$6,95 \pm 0,25$	46,9	53,1	0,88	(1960)
	10-12 Mon. ♀♀	$7,12 \pm 0,27$	46,7	53,3	0,88	
	3 Jahre ♂♂	$7,02 \pm 0,32$	46,8	53,2	0,88	
	3 Jahre ♀♀ laktierend	$7,36 \pm 0,24$	41,7	58,3	0,72	
71	1 Jahr	$6,04 \pm 0,046$	55,2	44,8	1,23	KETZ (1959)
		Plasma- wert	Serum- wert			

Für die Prüfung der Leberfunktion scheinen die beiden Transaminasen, die Glutamat-Oxalat- und die Glutamat-Pyruvat-Transaminase im Serum von besonderer Bedeutung zu sein. Sie spielen in der medizinischen Leberdiagnostik neben der Glutamat-Dehydrogenase eine entscheidende Rolle und werden aus diesem Grunde auch in der vorliegenden Versuchsreihe herangezogen. Eine kurze Übersicht der beim Schaf vorkommenden physiologischen Werte gibt die nachfolgende Tabelle (Tabelle 5).

Tabelle 5: Serumaktivitäten der Transaminasen bei klinisch gesunden Schafen

SGOT	SGPT	Methode bzw. Einheit	Autoren
164	23,2	Reitman- Frankel	BOYD (1962)
164		Karmen	BOYD (1962)
114 (50-162)		King	BROWN (1964)
35-50	10	mU/ml	DREPPER (1967)
119 - 175 Plasmaenzym- werte		Reitman- Frankel	ERASMUS (1968)
128	60	Reitman- Frankel	HANKIEWICZ (1964)
56 $\pm$ 31		Cabaud et al. mod. nach Ton- hazy et al.	KUTTLER (1958)
100 - 140 Plasmaenzym- werte	10 - 50	King	MALHERBE (1960)
90		IU/l	ROSS und DOW (1967)
29 - 46		mU/ml	SEWELL (1967)
142,6 (95-177)	31,0 (6-59)	King	WAGNER und BROWN (1966)
oo 99 $\pm$ 20 oo 97 $\pm$ 45	14,6 $\pm$ 3,9 12,7 $\pm$ 7,3	Reitman- Frankel	MASTERS und HORGAN (1962)
70 (62-92)	4,2 (2 - 6)	Reitman- Frankel	DONE et al. (1960)

Die Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) unterstützt bei menschlichen Leberfunktionsprüfungen das Enzymbild und somit den Aussagewert der Transaminasen. Sie findet ebenso wie die zum großen Teil in der Leber der Tiere (BOYD, 1962) vorkommende Laktat-Dehydrogenase (LDH) weitgehende Beachtung. Die Bestimmung der leberspezifischen Sorbit-Dehydrogenase (SDH) rundet das Enzymbild bei Erkrankungen der Leber ab. Die Bestimmung dieser Enzyme bei Schafen ist bisher nur von wenigen Autoren durchgeführt worden, so daß in der folgenden Tabelle (Tabelle 6) nur in geringem Maße eine Aussage über die physiologischen Werte im Serum gesunder Tiere gemacht werden kann.

Tabelle 6: Serumaktivitäten der Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), der Laktat-Dehydrogenase (LDH) und der Sorbit-Dehydrogenase (SDH) bei klinisch gesunden Schafen

GLDH	LDH	SDH	Methode bzw. Einheit	Autoren
12,3	2590		Mol/100 ml Serum Wroblewski u. La Due	BOYD (1962)
	410 - 590 Plasmaenzym- bestimmung		Mol/100 ml Serum Wroblewski u. La Due	BROWN (1964)
5-20		5-15	mU/ml	DREPPER (1967)
1-11			mU/ml	SEWELL (1967)
	625 (500-750)		mU/ml	WAGNER u. BROWN (1966)

C) Zur Pathophysiologie des Blutes bei der Fasciolose des Schafes

Breit angelegte Untersuchungen über pathologische Blutveränderungen bei der Fasciolose der Schafe wurden besonders von SINCLAIR (1962, 1964, 1970), BORAY (1967), SYMONS und BORAY (1967 und 1968), ROBERTS (1968), FURMAGA und GUNDLACH (1966, 1967, 1968) und HOLMES et al. (1968) durchgeführt.

1. Erythrozyten, Hämatokrit und Hämoglobingehalt

SINCLAIR (1962) stellte bei Infektionen mit 600 Metacercarien von Fasciola hepatica an Schafen fest, daß etwa zwischen 56 bis 112 Tagen p. i. ein stetiger und starker Abfall der Erythrozyten von ungefähr 10 Millionen/mm³ auf etwa 4,75 Millionen/mm³ eintrat. Bei Infektionen mit 150 Cysten über vier Wochen verteilt, fiel die Erythrozytenzahl sogar auf 2 Millionen/mm³ ab. Kurz vor dem Tode wurde bei zwei Schafen eine Blutuntersuchung durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt wiesen die nicht infizierten Kontrolltiere 10,2 Millionen Erythrozyten/mm³, einen Hämoglobingehalt von 10,3 g/100 ml und einen Hämatokrit von 30,5 % auf. Das moribunde Tier der einmalig infizierten Gruppe, gestorben 127 Tage p. i., sowie das Schaf der mehrmalig infizierten Gruppe, gestorben 165 Tage p. i., zeigten so niedrige Werte wie 5,2 bzw. 1,4 Millionen Erythrozyten/mm³, 3,9 bzw. 2,1 g Hämoglobin/100 ml und einen Hämatokrit von 13,5 bzw. 6,0 %. Sowohl in den Versuchen von 1962 als auch von 1970 konnte SINCLAIR eine entsprechende Anämieverlaufsform feststellen.

In analogen Untersuchungen an Schafen, die besonders die akute Verlaufsform der Fasciolose berücksichtigten, konnte auch BORAY (1967) bei Verabreichung einmaliger oder mehrmaliger Infektionsdosen von insgesamt 6000 Metacercarien von Fasciola hepatica einen beträchtlichen Abfall von Hämoglobin und Hämatokrit 4 bis 5 Wochen nach der

Infektion beobachten. Hämoglobin fiel auf 3,75 - 6,25 g/100 ml Blut, Hämatokrit auf 11 - 20 % ab bei physiologischen Werten von etwa 15,0 g Hämoglobin/100 ml Blut und einem Hämatokrit von 40 %. Infektionen mit 4000 Metacercarien pro Schaf zeigten entsprechende pathologische Blutveränderungen.

SYMONS und BORAY (1968) stellten bei Untersuchungen zur akuten und chronischen Fasciolose bei Schafen, die mit 4000 Cysten infiziert sechs und acht Wochen p. i. und mit 2000 Cysten 13 Wochen p. i. untersucht wurden, im Vergleich zu den nicht infizierten Kontrolltieren folgende Werte fest.

Methode	Kontrolltiere	Leberegelinfizierte Tiere		
		6 Wo. p.i. 4000 Mc.	8 Wo. p.i. 4000 Mc.	13 Wo.p.i. 2000 Mc.
Hämatokrit in %	36 (32-39)	28 (24-30)	28 (26-30)	15 (13-18)
Hämoglobin g/100 ml Blut	12,0 (10,5-13,2)	9,0 (7,5-10,0)	9,1 (8,3-10,0)	4,8 (4,0-5,8)

Schafe, die mit 200 bis 500 Metacercarien von Fasciola hepatica infiziert wurden, zeigten bis auf eine Inappetenz 14 Tage nach der Infektion keine klinischen Erscheinungen. Erst ab der 15. Woche p. i. traten Zeichen einer stärker werdenden Anämie auf, die 24 - 39 Wochen p. i. zu Todesfällen führte.

Entsprechende Ergebnisse, wie sie SYMONS und BORAY (1968) bei Infektionen mit 4000 Metacercarien von Fasciola hepatica berichten konnten, fand ROBERTS (1968) bei Infektionen mit 5000 Cysten, wobei allerdings die Hämoglobin- und Hämatokritbestimmungen nur bis zur 6. Woche p.i. durchgeführt wurden. Die physiologischen Ausgangswerte betrugen bei Hämoglobin 13,6 g/100 ml Blut, bei Hämatokrit 39 %. Von der 3. Woche p.i. an zeigten beide Werte eine

stetig abfallende Tendenz, wobei in der 6. Woche p. i. ein Hämoglobingehalt von 8,2 g/100 ml Blut und ein Hämatokritwert von 23,4 ermittelt wurde.

Auch FURMAGA und GUNDLACH (1966 und 1968) konnten bei Infektionen mit 20 Metacercarien pro kg Körpergewicht (800 - 1100 Metacercarien / Schaf) in Versuchen über 163 bzw. 119 Tage starke Anämien bei Schafen nachweisen, die mit den von SINCLAIR und BORAY beobachteten Befunden übereinstimmen. So sank die Erythrozytenzahl auf 3,6 bzw. 3,5 Millionen/mm³ ab. Der Hämoglobingehalt betrug am Ende der Versuche durchschnittlich 6,9 g/100 ml Blut.

2. Gesamtproteingehalt im Serum und Albumin-Globulin-Quotient

Wesentliche Schlüsse zum Nachweis von Leberfunktionsstörungen lassen sich aus dem gestörten Proteinmetabolismus und den damit verbundenen Änderungen im Bild der verschiedenen Eiweißfraktionen ziehen. Weitgehende Aussagen können hierbei schon durch die verschiedenen Verhältnisse von Albuminen zu Globulinen gemacht werden.

Aus diesen Gründen hatte SINCLAIR (1962) dem Eiweißhaushalt besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Bei einmaligen Infektionen mit 600 Cysten und solchen mit 150 Cysten an 4 aufeinanderfolgenden Wochen konnte SINCLAIR bis 84 Tage p. i. einen Gesamtproteinanstieg von 6,0 auf 6,8 bzw. auf über 7,0 g % ermitteln. Nach der 12. Woche p. i. sank der Gesamtproteingehalt der Seren auf etwa 4 g % stetig innerhalb von 7 Wochen ab und blieb bis zu einer chemotherapeutischen Behandlung auf diesem Stand.

Bis etwa zur 5. Woche p. i. entsprach dabei das Serum-eiweißbild bei der Fasciolose der Schafe nach einer Infektion mit 600 Metacercarien (SINCLAIR, 1962) dem der negativen Kontrolle, mit einem prozentualen Albumin- von 66 % und Globulingehalt von 34 %. Innerhalb von 7 Wochen erfolgte dann ein starker Globulinanstieg, so daß etwa 12 Wochen p. i. prozentuale Anteile von 43,0 % Albumin

und 57,0 % Globulin ermittelt werden konnten. Bei einem nur geringen weiteren Ansteigen der Globulinfractionen stand etwa 18 Wochen nach der Infektion ein Albumingehalt von 42,0 % einem Globulingehalt von 58,0 % gegenüber. Diese Hypoalbuminämie konnte über mehrere Monate bis zur Verabreichung eines Chemotherapeutikums beobachtet werden.

Noch deutlicher wurden diese Vorgänge nach Verabreichung sehr hoher Infektionsdosen von 5000 Cysten pro Tier in den Versuchen von ROBERTS (1968). Schon innerhalb von 1 - 2 Wochen nach der Infektion stiegen die Globuline auf ein Plateau an, das ungefähr von der 3. Woche bis zur 8. Woche bestand und hauptsächlich von den γ -Globulinen getragen wurde. Durch diese Vorgänge veränderte sich der Albumin - Globulin - Quotient von etwa 1,5 auf etwa 0,3.

FURMAGA und GUNDLACH (1967 und 1968) bestätigten in ihren Versuchen diese Ergebnisse und konnten einen statistisch gesicherten Anstieg des Gesamtproteins zwischen 28 und 105 Tagen nachweisen. Dies galt auch für die vom 7. bis 163. Tag, dem Ende des Versuches, bestehende Hypoalbuminämie. Eine signifikante Hyperglobulinämie zeigte sich zwischen dem 28. und 49. Tag nach der Infektion.

3. Enzyme

Zur Einengung der durch die Fasciolose der Schafe hervorgerufenen Leberfunktionsstörung wurden in den letzten Jahren eine Reihe von Untersuchungen durchgeführt, die das Enzymbild dieser Erkrankung veranschaulichen. JENNINGS et al. (1968) bestimmten die Alkalische Phosphatase (AP), die Isocitrat-Dehydrogenase (ICDH) und die Transaminasen im Serum von Schafen, die mit 1000 Metacercarien von Fasciola hepatica infiziert worden waren. Ungefähr 3 bis 4 Wochen p. i. erhöhten sich die Werte der AP, der ICDH und der SGOT stetig, um zwischen der 5. - 7. Woche p. i. ein Maximum zu erreichen. Danach fielen die Werte bis zur 11. Woche p. i. wieder auf den physiologischen Bereich ab.

Ein erweitertes Enzymspektrum bestimmten PINKIEWICZ et al. (1968). Sie untersuchten 10 experimentell mit 20 Metacercarien / kg Körpergewicht (800 - 110 Cysten / Tier) und 10 natürlich infizierte Schafe auf Veränderungen der Alanin-Amino-Transferase (AlAT), der Asparagin-Amino-Transferase (AspAT), der Aldolase (Ald), der Phosphor-Hexo-Isomerase (PHI) und der Alkalischen Phosphatase (AP) über 163 Tage nach der Infektion. Während der beiden ersten Wochen konnte keine Veränderung bei allen Enzymen beobachtet werden. Vom 28. bis zum 163. Tag bestand bei der AlAT in geringem Maße eine Aktivitätssteigerung, die im oberen physiologischen Bereich tendierte. Die AspAT erreichte innerhalb von 28 Tagen ein Maximum, um dann ab dem 77. Tag p. i. auf die obere physiologische Aktivitätslage abzusinken. Aldolase und PHI waren ohne Bedeutung. Die AP war zwischen dem 14. - 49. und dem 91. - 163. Tag p. i. erhöht. Alle Enzyme waren also meist innerhalb ihrer Normallage, tendierten aber gegenüber den Negativkontrollen zur oberen physiologischen Norm.

Bei den von DREPPER (1967) ausgewählten Enzymen für eine Leberdiagnostik handelte es sich um GOT, GPT, GLDH, SDH, LAP und FDP. Vier Schafe wurden mit Fasciola hepatica infiziert und 116 Tage später getötet, wobei Ansitzraten von 9, 16, 18 und 4 Leberegel festgestellt werden konnten. Die GOT erhöhte sich nach den ersten vier Wochen mit Werten von 35 - 50 mU/ml auf 60 - 150 mU/ml Serum 8 Wochen p. i. GLDH und SDH reagierten in der ersten Zeit ähnlich und erreichten Enzymaktivitäten von 5 - 20 bzw. 5 - 15 mU/ml Serum. In den weiter folgenden vier Wochen stiegen die Aktivitäten auf 25 - 75 und 20 - 35 mU/ml Serum an und wiesen 7 bis 8 Wochen nach der Infektion ihr Maximum auf. Zwei Wochen später fielen alle Enzyme auf oder unter ihre Ausgangswerte, bei denen sie bis Ende des Versuches verblieben. LAP, FDP und GPT blieben konstant unter 10 mU/ml Serum.

In Untersuchungen an vier mit 5500, 11000, 11000, 5500 Metacercarien infizierten Schafen konnte SEWELL (1967) drei bis neun Wochen nach der Infektion die in Tabelle 7 zusammengefaßten Werte für GOT und GLDH feststellen.

Tabelle 7: GOT- und GLDH-Veränderungen (Mittelwerte) im Verlauf der Fasciolose beim Schaf (nach SEWELL, 1967)

Schaf Nr.	Anzahl Metac./ Schaf	GOT in mU/ml		GLDH in mU/ml	
		vor der Infekt.	3-9 Wo. p.i.	vor der Infekt.	3-9 Wo.p.i.
11	5500	41	50 (37-59)	1	23 (12-31)
12	11000	39	65 (60-72)	1	35 (15-63)
13	11000	41	73 (49-92)	5	34 (12-51)
14	5500	47	71 (59-80)	5	30 (24-37)

Auf Grund ihrer Untersuchungen unterschieden ROSS et al. (1967) bei der Fasciolose der Schafe zwischen einem akuten Typ I, bei einem Befall mit 1000 - 2500 Leberegel, einem akuten Typ II, mit 700 - 1000 Leberegel, einem subakuten Typ mit 800 - 1500 Leberegel und einem chronischen Typ mit 200 - 800 Leberegel pro Schaf. Beide akute Typen waren durch den plötzlichen Tod der Tiere infolge Leberblutungen gekennzeichnet, während der subakute Typ von einer Anämie mit starkem Konditionsverlust und der chronische Typ von einer Anämie mit Konditionsschwächen und Kachexie begleitet war. Im Vergleich zur Negativkontrolle mit SGOT-Werten von 90 I.U./l waren bei der akuten Fasciolose vom Typ I und II 320 I.U./l, bei der subakuten 140 I.U./l und bei der chronischen 100 I.U./l von den Autoren festgestellt worden. ROBERTS (1968) bestimmte die SGOT-Aktivität nach WOOTTON (1964) in Reitman-Frankel-Einheiten. Zum Zeitpunkt der Infektion lag die Enzymaktivität bei etwa 50 R.F.U. Sie stieg innerhalb von 6 Wochen ums Doppelte auf etwa 100 R.F.U. an.

D) Zur Pathophysiologie des Blutes bei der Fasciolose des Rindes

Über die Pathogenese experimenteller Fasciola hepatica-Infektionen beim Rind wurden von ROSS et al. (1966) Untersuchungen durchgeführt. Sie lassen erkennen, daß nach experimenteller Infektion von Kälbern mit 200 - 1500 Cysten von Fasciola hepatica mit einem durchschnittlichen Angehen der Invasion von 25 % zu rechnen ist. Da nach Infektionen mit höheren Metacercarienzahlen die Wirtsreaktion schon sehr früh und stark gegen die Wanderformen einsetzte und die Ansitzrate erheblich absank (ROSS, 1965), waren außer einer Bluteosinophilie und einem geringen Ansteigen der SGOT in der Wanderphase keine weiteren klinischen Symptome festzustellen.

HÖRCHNER (1969) konnte bei 15 parasitenfrei aufgezogenen Kälbern, die im Alter von vier Wochen mit 200 - 500 Metacercarien von Fasciola hepatica infiziert und drei Monate später mit je 2000 Cysten belastet wurden, keine stark ausgeprägten klinischen Erscheinungen feststellen. Außer einer mittelgradigen Eosinophilie bestand ein deutlicher Anstieg von SDH, GLDH und teilweise auch von SGOT zwischen der 7. und 12. Woche p. i. Auch mit der chronischen Fasciolose ging keine entscheidende Anämie oder ein Anstieg von Bilirubin konform.

Bei der Untersuchung von 103 Schlachtrindern, 35 gesunde, 54 an Fasciolose, 10 an Fasciolose und Lungentuberkulose sowie 4 nur an Tuberkulose erkrankten Tieren, konnte HANKIEWICZ (1964) keine Steigerung der beiden Transaminasen gegenüber den gesunden Kontrolltieren feststellen. Auch ROSSOW et al. (1966) sind auf Grund ihrer Untersuchungen vom gänzlichen Versagen der Transaminasen im Serum bei gering- bis mittelgradiger Rinder-Fasciolose überzeugt.

E) Neuere Ergebnisse chemotherapeutischer Untersuchungen bei der Fasciolose der Schafe

In den letzten 12 Jahren wurden im Gefolge intensiver experimenteller Forschungsarbeiten eine Reihe neuer fasciolicid wirksamer Substanzklassen entdeckt, aus welchen inzwischen einige Verbindungen wie 1,4-Bis-trichlor-methylbenzol, Hexachlorophen, Menichlopholan, Hilomid, Nitrioxynil, Oxyclozanide, Ph 1882 und Clioxanide in die praktische Leberegeltherapie eingeführt werden konnten. Andere Verbindungen wie Diaphene, Bithionol, Bithionol-sulfoxid besitzen nur experimentelles Interesse bzw. haben nur geringe Bedeutung erlangt. Rafoxanide befindet sich zur Zeit noch im Stadium der klinischen Prüfung. Zusammenfassende Darstellungen der bisherigen Ergebnisse finden sich bei LÄMMLER (1964, 1968, 1969), GIBSON (1964, 1969) und BORAY (1969). In der folgenden Literaturübersicht sollen daher nur diejenigen Leberegelmittel Berücksichtigung finden, die wegen ihrer praktischen Bedeutung und insbesondere hinsichtlich ihrer Wirksamkeit gegen die Jugendstadien von Fasciola hepatica von besonderem Interesse sind.

1. 1,4-Bis-trichlor-methylbenzol (Hexachlorparaxylol)

Aus der Reihe der chlorierten Kohlenwasserstoffe wurde von LÄMMLER im Jahre 1960 1,4-Bis-trichlor-methylbenzol (HETOL^R) in die praktische Leberegeltherapie eingeführt, das sich in umfangreichen experimentellen und klinischen Untersuchungen bei Laboratoriumstieren, Schafen und Rindern, (LÄMMLER, 1960, 1961; BEHRENS, 1960, 1962; EIKMEIER und KAMEL, 1961; ENIGK und DÜWEL, 1960 u. a. siehe LÄMMLER, 1964) gegen Fasciola hepatica-Infektionen sehr wirksam und gut verträglich erwies.

In seinen Untersuchungen ging LÄMMLER (1960) nicht auf die Wirksamkeit gegen jugendliche Stadien von Fasciola hepatica ein. Die Erprobung des Präparates an Rindern und

Schafen mit einer durch adulte Leberegel hervorgerufenen Fasciolose zeigte jedoch bei der Bestimmung der niedrigsten kurativen Dosis sehr gute Ergebnisse.

In späteren Untersuchungen von BORAY und HAPPICH (1967 und 1968) wurde 1,4-Bis-trichlor-methylbenzol auch auf seine Wirksamkeit gegen präadulte Stadien von Fasciola hepatica geprüft. Die chemotherapeutische Wirksamkeit gegen 4 Wochen alte, jugendliche Leberegel wies bei einer Dosierung von 1200 mg Wirkstoff pro kg Körpergewicht und einem "Safety-Index" von 0,5 nur eine 60,7%ige Reduktion der Leberegel auf. Bei gleicher Dosierung 6 Wochen p. i. wurden zwar schon über 90 % der Leberegel abgetötet, jedoch muß auch hier der noch sehr kleine "Safety-Index" berücksichtigt werden. Bei einer 8 Wochen alten Infektion bewirkten 150, 300, 600 mg Wirkstoff/kg Körpergewicht eine Abtötungsrate von 19, 44,9 und 59,3 % der Leberegel mit einem "Safety-Index" von 4,0, 2,0 und 1,0. Erst die Behandlung adulter Leberegel beim Schaf mit 150 mg/kg Körpergewicht und einem "Safety-Index" von 4,0 beweist die Güte dieser Substanz bei einer 12 Wochen alten Fasciolose.

2. Hexachlorophen

Aus der Klasse der halogenierten Phenole hat das zuerst von HIRSCHLER (1957) in Wien gefundene Hexachlorophen als Leberegelmittel Bedeutung erlangt. BORAY und HAPPICH (1967, 1968) fanden nach Verabreichung des Präparates in oralen Dosen von 30, 20 und 15 mg/kg Körpergewicht bei 4, 6, 8 und 12 Wochen alten Infektionen eine Reduktion des Leberegelbefalls von 90 % und mehr. Der für die jeweiligen kurativen Dosen ermittelte "Safety-Index" lag aber nur zwischen 1,0 und 2,0. Damit scheidet auch Hexachlorophen trotz seiner an sich guten fasciolociden Wirksamkeit als Leberegelmittel zur Behandlung der Jugendstadien von Fasciola hepatica weitgehend aus.

3. Bithionol und Bithionolsulfoxid

Die Hexachlorophen ähnlichen Verbindungen Bithionol, Bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorphenyl)-sulfid, (Bitin^R, Actamer^R) und Bithionolsulfoxid (Bitin S^R) zeigten in den Untersuchungen von SAMSON et al. (1969) bei natürlich infizierten Schafen mit einer 12 Wochen alten Fasciola hepatica-Infektion in Dosen von 220 bzw. 100 mg/kg Körpergewicht eine 100%ige Wirksamkeit. Bei 12 experimentell mit 200 Metacercarien von Fasciola hepatica infizierten Schafen beseitigte Bithionolsulfoxid bei einer Behandlung 6 Wochen p. i. in einer Dosis von 200 mg/kg p. o. den Leberegelbefall vollständig. Mit einer Dosis von 300 mg/kg p. o., 9 Wochen p. i., konnten 99 % der Parasiten abgetötet werden. Die Präparate verursachten aber bereits in Dosen von 200 mg/kg p. o. Verdauungsstörungen, die von schlecht verdaulichem weichen Kot bis zu Diarrhöen reichten. Eines der beiden natürlich infizierten Tiere starb bei dieser Dosis. 300 mg/kg p. o. verursachten Appetit- und Gewichtsverlust sowie Gleichgewichtsstörungen. Ein Tier starb auch hier etwa 7 Tage nach der Behandlung. Das Auftreten erheblicher Nebenerscheinungen bei der Bithionol-Therapie, wie sie auch von UENO (1964) nach Verabreichung von 100 - 300 mg/kg p. o. beobachtet werden konnten, schließt somit eine Anwendung der Präparate gegen die jugendliche Leberegelinfektion aus.

4. Nitrioxynil

Das im Jahre 1966 in England entwickelte Nitrioxynil, 4-Cyan-2-jod-6-nitrophenol, (TRODAX^R) wurde erstmals von DAVIS et al. (1966) auf seine Wirksamkeit gegen jugendliche wie geschlechtsreife Stadien von Fasciola hepatica geprüft. Nach subcutaner Applikation konnten bei Schafen die in Tabelle 8 aufgeführten Ergebnisse erzielt werden.

Tabelle 8: Die Wirksamkeit von Nitrioxynil bei Fasciola hepatica infizierten Schafen (nach DAVIS et al., 1966)

Wochen p.i.	Dosis mg/kg sc.	Anzahl Schafe	Anzahl Leberegel 14 Wo. p.i.	Reduktion in %
4	34	5	12,2	88,0
	20	6	32,0	68,5
6	20	5	0	100,0
	10	5	29,2	70,0
8	10	5	3,8	96,0
10	10	3	0	100,0
	5	4	36	64,0
14	-	15	101,5	-

Zur Feststellung der Dosis curativa minima und der Dosis tolerata maxima in Versuchen an infizierten Schafen, Kälbern und Kaninchen mit adultem Leberegelbefall wurde Nitrioxynil subcutan, intramuskulär und oral verabreicht. Die hierbei erzielten Ergebnisse sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Ergebnisse chemotherapeutischer und toxikologischer Untersuchungen mit Nitrioxynil (nach DAVIS et al., 1966)

Tierart	Dosis tol. max. mg/kg		Dosis cur. min. mg/kg	
	per os	sc. oder i.m.	per os	sc. oder i.m.
Kaninchen	100	70	10	10
Schaf	75	40	50	8
Kalb	75	40	50	8

Aus den vorstehend aufgeführten Untersuchungen ergab sich somit bei subcutaner Applikation ein "Safety-Index" für Kaninchen von 7, für Schafe und Kälber einen solchen von 5.

LUCAS (1967) prüfte Nitrioxynil ebenfalls auf seine Wirksamkeit gegen jugendliche und geschlechtsreife Stadien des großen Leberegels Fasciola hepatica bei Kaninchen, Schafen und Kälbern. Er stellte bei der intramuskulären Applikation eine Dosis tolerata maxima von 70 mg/kg bei Kaninchen, von 50 mg/kg bei Schaf und Kalb fest. Bei subcutaner Verabreichung ermittelte er eine Dosis tolerata maxima von 40 mg/kg bei Schaf und Kalb und bei oraler Applikation eine solche von 75 mg/kg beim Schaf und 50 mg/kg beim Kalb. 40 mg/kg Nitrioxynil verursachten zwar Hyperthermie und Hyperpnoe, jedoch keinen Todesfall; 10 mg/kg waren ohne jeden Einfluß auf die Körperfunktionen der großen Versuchstiere.

Spezielle Untersuchungen bei adulten Leberegelinfektionen zeigten, daß die parenterale Applikation der oralen Verabreichung beim Kaninchen ebenbürtig, bei Schaf und Kalb um das sechsfache überlegen ist. 10 mg/kg per os oder parenteral gegeben töteten bei Kaninchen geschlechtsreife Leberegel ab. 50 mg/kg per os und 8 mg/kg parenteral hatten sowohl bei Schaf als auch bei Kalb die gleiche 100%ige Wirksamkeit. Der sehr niedrige chemotherapeutische Index bei den großen Versuchstieren von 1 bei der oralen Therapie erhöhte sich dadurch auf 5 bei der parenteralen Anwendung des Präparates. Weiterhin untersuchte LUCAS (1967) die Wirksamkeit der Substanz bei 4, 5, 6, 8 und 10 Wochen alten Leberegelinfektionen bei Behandlungsdosen von 34, 20, 10 und 5 mg/kg Körpergewicht. Die hierbei erzielten Ergebnisse sind in Tabelle 10 übersichtlich dargestellt.

Tabelle 10: Wirkung von Nitrioxynil auf jugendliche und adulte große Leberegel beim Schaf (nach LUCAS, 1967)

Wochen p.i.	Dosis mg/kg sc.	Reduktion in %
4	34	88,0
	20	68,5
5	34	87,0
	20	81,3
	20	100,0
6	10	70,0
	10	96,0
8	5	64,0
	10	100,0
10	10	100,0

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen ergibt sich eine sehr gute Wirksamkeit von Nitrioxynil sowohl gegen geschlechtsreife als auch gegen jugendliche Stadien von Fasciola hepatica beim Schaf, wobei mit einer Dosis von 10 mg/kg sc. allerdings erst ab 8 Wochen p. i. eine befriedigende Wirkung erzielt werden kann.

Auch BORAY und HAPPICH (1968) konnten bei experimentell mit 200 Metacercarien infizierten Schafen eine gute Wirksamkeit von Nitrioxynil feststellen. 6,7 mg/kg subcutan verabreicht, bewirkten eine Reduktion von 99 % 12 Wochen p. i., 10 mg/kg eine 100%ige Abtötung der Leberegel, 13,5 bzw. 20,0 mg/kg subcutan 6 Wochen p. i. appliziert, ließen 92 bzw. 98 % der Leberegel absterben. Auf eine Behandlung mit 30 mg/kg erfolgte eine Reduktion von 85 % 4 Wochen nach der Infektion. In der für die Praxis empfohlenen Dosierung von 10 mg/kg sc. konnten COLEGRAVE (1967, 1968),

REID (1970), NICOLAS (1968), LUCAS (1967), GUILHON (1967) und ROY (1969) bei natürlich infizierten Schafen beste Resultate erzielen, ohne toxische Nebenerscheinungen zu beobachten.

5. Menichlopholan

Das neben Nitrioxynil wohl wirksamste Präparat aus der Gruppe der halogenierten Phenole ist das schon 1959 von FEDERMANN entwickelte Menichlopholan, 5,5'-Dichlor-2,2'-dihydroxy-3,3'-dinitrobiphenyl (BILEVON^R M und R). In vergleichenden chemotherapeutischen Versuchen prüften es BORAY und HAPPICH (1967, 1968) unter standardisierten Bedingungen bei einer Infektionsrate von 200 Metacercarien des großen Leberegels Fasciola hepatica beim Schaf, insbesondere hinsichtlich seiner Wirksamkeit gegen jugendliche Stadien. Die hierbei erzielten Ergebnisse sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Wirksamkeit von Menichlopholan bei Fasciola hepatica infizierten Schafen 4, 6, 8, 12 Wochen p.i. (nach BORAY und HAPPICH, 1967, 1968)

Wochen p.i.	Dosis mg/kg per os	Reduktion in %	"Safety- Index"
4	16	100	0,75
	8	93	1,5
	6	58	2,0
6	16	100	0,75
	8	99	1,5
	6	91	2
8	8	99,7	1,5
	4	58,4	3
12	4	100	3
	2,7	99	4,4

Zur Überprüfung der Wirksamkeit gegen jugendliche und geschlechtsreife Stadien behandelte FEDERMANN (1968) mit 200 Metacercarien experimentell infizierte Schafe 6, 8, 10 und 12 Wochen post infectionem mit einer Dosis von 5 mg/kg und 2 mg/kg p. o. Bei einer Dosierung von 5 mg/kg erzielte er von der 6. Woche p. i. an und bei 2 mg/kg von der 10. bis zur 12. Woche p. i. eine mehr als 80%ige fasciolicide Wirksamkeit.

HAPPICH et al. (1967) konnten Menichlopholan beim Ausbruch einer akuten Fasciolose testen. Aufgrund der Krankheitsgeschichte wurde festgestellt, daß die Infektion zum Zeitpunkt der Behandlung ungefähr 8 Wochen alt war. Bei der Sektion von 14 Schafen zeigte sich aber, daß 1 - 3 Tage vor der Behandlung eine weitere Infektion stattgefunden haben mußte. Die Wirksamkeit des Präparates bei den erkrankten Schafen wurde im Vergleich zur nicht behandelten Gruppe durch die Bestimmung der prozentualen Eiausscheidung im Kot 10 Wochen nach der Behandlung ausgewertet. So konnten 8 mg/kg beim Ausbruch einer akuten Fasciolose eine Eireduktion von 86,6 % hervorrufen. 16 Wochen nach der ersten Therapie erfolgte eine erneute Behandlung mit Menichlopholan in einer Dosis von 2 - 3 mg/kg p. o. Etwa vier Wochen danach konnte bei den behandelten Schafen eine Reduktion der Eiausscheidung von 98,6 % ermittelt werden.

Trotz guter fasciolicider Wirksamkeit gegen jugendliche Stadien des großen Leberegels beeinträchtigt der zu niedrige "Safety-Index" eine problemlose praktische Einsetzung von Menichlopholan gegen 6 - 8 Wochen alte Infektionen bei Fasciola hepatica-infizierten Schafen.

Ganz neue Wege eröffneten die im Jahre 1963 durch LIENERT als sehr wirksam gegen Fasciola hepatica erkannten halogenierten Salicylsäureanilide. Auch hierbei zeigte sich sehr bald der Trend zu immer wirksameren, in niedrigeren Dosierungen auch gegen jugendliche Stadien wirksamen Verbindungen sehr deutlich.

6. Hilomid

BORAY et al. (1965) berichteten über die Wirksamkeit von Hilomid (bestehend aus einem Teil 3,5-Dibromsalicylsäure-4'-bromanilid und einem Teil 5-Bromsalicylsäure-4'-bromanilid) und verabreichten das Präparat in ovalen Dosen von 30 und 60 mg/kg an Fasciola hepatica infizierte Schafe 4, 6, 8, 10 und 12 Wochen p. i. Auch HILDEBRANDT (1968) ging bei seinen Behandlungsversuchen an mit Fasciola gigantica infizierten Schafen von einer ovalen Dosis von 30 und 60 mg/kg Körpergewicht aus. Die Untersuchungen beider Autoren erbrachten die in Tabelle 12 zusammengefaßten Ergebnisse.

Tabelle 12: Wirksamkeit von Hilomid bei Fasciola hepatica u. gigantica infizierten Schafen (nach BORAY et al. (1965) und HILDEBRANDT (1968))

Wochen p. i.	Dosis mg/kg p. o.	Reduktion in %	
		BORAY et al. (1965)	HILDEBRANDT (1968)
4	30	29,18	
	60	45,60	
6	30	36,29	
	60	90,80	39,1
8	30	59,00	
	60	98,00	92,2
10	30	86,43	79,7
	60	100,00	100,0
12	30	98,62	99,4
	60	100,00	99,4
16	30	-	100,0
	60	-	100,0

Zur Festlegung des "Safety-Index" ergänzten BORAY und HAPPICH (1968) ihre früheren Untersuchungen mit Hilomid in standardisierten Versuchen an Schafen und erzielten dabei die in Tabelle 13 dargestellten Ergebnisse. Sie berücksichtigten dabei eine ebenfalls an infizierten Tieren ermittelte Dosis tolerata maxima von 60 mg/kg per os.

Tabelle 13: Wirksamkeit von Hilomid bei Fasciola hepatica infizierten Schafen (nach BORAY und HAPPICH, 1968)

Wochen p. i.	Dosis mg/kg p. o.	Reduktion in %	"Safety- Index"
4	30	29	2,0
	60	46	1,0
	120	90	0,5
6	30	36	2,0
	60	91	1,0
8	30	59	2,0
	60	98	1,0
12	15	72	4,0
	20	91	3,0
	30	99	2,0
	60	100	1,0

So kann auch Hilomid aufgrund des "Safety-Index" nur bei einer Behandlung gegen adulte Leberegel voll überzeugen.

7. Clioanide

Durch seine gute Wirksamkeit auch auf jugendliche Stadien des großen Leberegels weist sich Clioanide 2-Acetoxy-4'-chlor-3,5-dijod-benzanilid (TREMERAD^R) aus, das ebenfalls von BORAY und HAPPICH (1968) eingehend geprüft wurde. Bei intraruminaler Verabreichung des Präparates ermittelten

die Autoren die in Tabelle 14 zusammengefaßten Ergebnisse. Bei der Berechnung des "Safety-Index" berücksichtigten sie dabei eine ebenfalls an infizierten Schafen ermittelte Dosis tolerata maxima von 100 mg/kg intraruminal.

Tabelle 14: Wirksamkeit von Clioxanide bei Fasciola hepatica infizierten Schafen nach intraruminaler Verabreichung (nach BORAY und HAPPICH, 1968)

Wochen p. i.	Dosis mg/kg	Reduktion in %	"Safety- Index"
4	60	53	1,7
	90	75	1,1
	135	98	0,7
6	30	74	3,3
	45	99	2,2
	67,5	97	1,5
10	10	68	10,0
	15	93	6,7
	22,5	97	4,4

Auch HEBDEN (1967) konnte an 10000 Schafen und 500 Rindern Clioxanide prüfen. Bei Schafen erwiesen sich 25 mg/kg p. o. gegen reife Leberegel zu 98 - 100 % wirksam, während 50 mg/kg 81 - 87 % Leberegel einer 6 Wochen alten Infektion abtöteten. Unter Berücksichtigung einer curativen Dosis von 25 mg/kg p. o. errechnete HEBDEN einen chemotherapeutischen Index von 16 bei gesunden und einen solchen von 8 bei stark gestressten Tieren.

Clioxanide weist aufgrund dieser Untersuchungen eine gute fasciolicide Wirksamkeit gegen jugendliche Stadien von Fasciola hepatica auf. Aber auch hier läßt sich erkennen, daß erst bei Behandlungen 10 Wochen p. i. eine für die Praxis ausreichende Sicherheit vorhanden ist.

8. Oxyclozanide

Ein Präparat mit ähnlicher Wirksamkeit ist das 1966 von WALLEY entwickelte Oxyclozanide, 3,3'-5,5'-6-Pentachlor-2,2'-dihydroxy-benzanilid (DIPLIN, ZANIL^R), das er im gleichen Jahr noch bei Schafen und Rindern prüfen konnte. Schon 3 Wochen nach der Infektion mit 400 Metacercarien von Fasciola hepatica erfolgte die erste Behandlung an Schafen. Dabei konnten Dosierungen von 15 bzw. 30 mg/kg p. o. 7 und 22 % der infizierten Leberegel abtöten. Wurde das Präparat zwischen der 6. und 7. Woche p. i. auf seine fasciolicide Wirksamkeit in Dosen von 25, 30, 40 und 60 mg/kg p. o. geprüft, so konnten prozentuale Reduktionen in der Ansitzrate des Leberegels von 28, 32, 35 und 89 festgestellt werden. Gegen reife Leberegel erwiesen sich 10 und 15 mg/kg p. o. zu 78 - 81 und 94 - 97 % wirksam.

Im Jahre 1968 untersuchten auch BORAY und HAPPICH Oxyclozanide in ihren mit Infektionen von 200 Metacercarien / Schaf standardisierten Versuchsreihen. Als Dosis tolerata maxima konnten sie dabei 60 mg/kg Körpergewicht per os ermitteln. In Therapieversuchen an Schafen 4, 6 und 12 Wochen nach der Infektion mit 15, 27, 40 und 60 mg/kg p. o. konnten BORAY und HAPPICH 4 Wochen p. i. mit 60 mg/kg 62 %, 6 Wochen p. i. mit 40 bzw. 27 mg/kg 90 und 69 % und gegen adulte Leberegel mit 15 mg/kg 94 % der Parasiten abtöten. Auch bei stärkeren Infektionen (BORAY, 1969) war Oxyclozanide in Dosierungen von 40 mg/kg 6 Wochen p. i. zu 92,4 % wirksam. Für die vier zur Behandlung herangezogenen Dosierungen von 15, 27, 40 und 60 mg/kg p. o. konnten die Autoren einen "Safety-Index" von 4, 2,2, 1,5 und 1,0 ermitteln.

Die in diesen experimentellen Untersuchungen festgestellte gute Wirksamkeit von Oxyclozanide bei Fasciola hepatica infizierten Schafen konnte in den letzten Jahren von zahlreichen Autoren in der Praxis bestätigt werden. JONES (1966), FROYD (1968), VAUGHAN (1966) und MITTERPAK

(1968) prüften das Präparat in Feldversuchen am Schaf in Dosierungen von 10 - 25 mg/kg Körpergewicht und erzielten eine zwischen 80 - 100 % liegende fasciolicide Wirksamkeit gegen adulte Leberegel. Sie konnten dabei keine nennenswerten Nebenerscheinungen beobachten.

So ist auch dieses Präparat mit einem ausreichenden "Safety-Index" nur gegen adulte Leberegel geeignet.

9. Rafoxanide

MROZIK und JONES (1969) sowie CAMPBELL, OSTLIND und JAKSTIS (1970) berichteten über eine neue leberegelwirksame Substanz mit der chemischen Bezeichnung 3,5-Dijod-3'-chlor-4'-(p-chlorphenoxy)-salicylanilid, die unter der Prüfungsbezeichnung MK 990 (Rafoxanide) inzwischen von mehreren Autoren auf ihre Wirksamkeit gegen Fasciola hepatica-Infektionen untersucht wurde.

Nach MROZIK und JONES (1969) erwies sich das Präparat bei mit adulten Leberegeln infizierten Schafen in einer oralen Dosis von 5 mg/kg über 90 % wirksam. Ein analoges Ergebnis konnten die Autoren mit 12,5 mg/kg bei 6 Wochen alten Infektionen sowie mit 50 mg/kg bei Behandlungen 4 Wochen p. i. erzielen. Eine Dosis von 25 mg/kg p. o. 4 Wochen p. i. verabreicht, tötete die Hälfte der infizierten Leberegel ab.

In Toxizitätsversuchen zur Festlegung der Dosis tolerata maxima wurden bei nicht infizierten Versuchstieren 200 mg/kg p. o. bei natürlich infizierten Schafen 150 mg/kg p. o. ermittelt.

Hieraus ließe sich unter Berücksichtigung der jeweiligen mindestens 90 % wirksamen "curativen Dosis" gegen adulte Leberegel bzw. gegen 6 und 4 Wochen alte Infektionen von 5, 12,5 und 50 mg/kg per os ein chemotherapeutischer Index von 40, 16 und 4 errechnen. Der "Safety-Index" unter Verwendung der bei natürlich infizierten Tieren er-

mittelten Dosis tolerata maxima von 150 mg/kg p. o. würde dann 30, 12 und 3 ausmachen. Allerdings konnten in Dosen von 100, 150 und 200 mg/kg p. o. bei einigen Tieren Augenschäden festgestellt werden. Trotz sehr hoher Infektionen mit 1000 Metacercarien pro Schaf wurden 8 Wochen nach der Infektion bei Verabreichung von 60 mg/kg p. o. keine toxischen Nebenwirkungen bei Schafen beobachtet. In diesem Falle betrugen die entsprechenden "Safety-Indices" bei adulten Parasiten 12, bei 6 Wochen und 4 Wochen alten Wandformen von Fasciola hepatica 4,8 bzw. 12.

Erste klinische Untersuchungen mit Rafoxanide führte auch BORAY (1969) in Australien durch. Bei Infektionen mit 200 Cysten von Fasciola hepatica wurden, um 90 % oder mehr der infizierten Leberegel abzutreiben, 4 Wochen p. i. 40 mg/kg, 6 Wochen p. i. 20 mg/kg und 12 Wochen p. i. 6,7 mg/kg des Präparates oral verabreicht. Diese Dosierungen entsprechen Sicherheitsindices bei BORAY von 1,5, 3,0 und 8,9.

Aufgrund der von BORAY (1969) gefundenen Ergebnisse scheint auch Rafoxanide nur bei der therapeutischen Beeinflussung adulter Leberegel einen ausreichend hohen "Safety-Index" zu besitzen.

F) Chemotherapeutische Untersuchungen bei der Fasciolose der Ratte

Seit der Einführung der Fasciola hepatica-Infektion der Albinoratte in das chemotherapeutische Leberegel-Screening durch LÄMMLER (1959) hat sich diese Modell-Infektion in vielfältigen Untersuchungen als sehr nützlich erwiesen.

Mit der Entdeckung der fascioliciden Wirksamkeit der chlorierten Salicylsäureanilide haben sich jedoch Diskrepanzen insofern ergeben, als sich die beim Schaf gegen Fasciola hepatica sehr gut wirksamen Präparate Hilomid

und ClioXanide, bei entsprechenden Untersuchungen an der Ratte sowohl gegen jugendliche als auch gegen erwachsene Leberegel weitgehend unwirksam erwiesen haben.

Obgleich LÄMMLER (1968) in seinen vergleichenden Studien an der Fasciola hepatica infizierten Ratte in einer Dosis von 200 mg/kg p. o. eine gute fasciolicide Wirkung von Diaphene bei einer allerdings sehr kleinen chemotherapeutischen Breite nachweisen konnte, erwies sich das ähnlich zusammengesetzte Präparat Hilomid in den Versuchen von BORAY et al. (1967) in Dosen von 90 und 120 mg/kg p. o. nahezu völlig unwirksam.

Ähnliche Untersuchungen von TEWARI (1968) mit ClioXanide an Leberegel infizierten Wistar-Ratten und nach Verabreichung einer Dosis von 135 und 200 mg/kg p. o. hatten ebenfalls ein negatives Ergebnis.

Weiterhin zeigte eine andere Verbindung aus der Klasse der halogenierten Salicylsäureanilide das Oxyclozanide in den Versuchen von BORAY et al. (1967) in Dosen von 30 und 60 mg/kg p. o. gegen jugendliche und erwachsene Leberegel einen nur unbefriedigenden fascioliciden Effekt.

Über die fasciolicide Wirksamkeit der in den letzten 12 Jahren entwickelten neuen Leberegelmittel beim Kaninchen liegen außer den von LÄMMLER (1968) zusammengefaßten Befunden keine neuen Ergebnisse vor.

Studien über den Einfluß der Chemotherapie auf die Pathophysiologie des Blutes beim Schaf wurden unter Berücksichtigung des roten Blutbildes und der Serum-Eiweißkonstellation bisher nur von SINCLAIR (1962) und ROBERTS (1968) durchgeführt.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A) Material und Methode

1. Versuchstiere

a) Schafe

Als Versuchstiere dienten in den vorliegenden Untersuchungen 54 männliche und weibliche deutsche schwarzköpfige Fleischschafe. Die Tiere waren bei Versuchsbeginn etwa 1 Jahr alt und wogen durchschnittlich 44,5 kg. Die Schafe wurden in 9 Gruppen zu je 6 Tieren mit gleichem Gruppendurchschnittsgewicht eingeteilt. Die Haltung erfolgte im Freiluftstall auf Stroh mit vierzehntägiger Entmistung. Als Nahrung erhielten sie täglich Heu und Wasser ad libitum sowie pro Tier ca. 500 g Melasseschnitzel und ca. 500 g Hafer. Zusätzlich wurden täglich 20 g eines Mineralsalzgemisches für Tiere "Bayer" pro Tier verabreicht.

Nach einer am 20. Dezember 1968 vorgenommenen koprologischen Untersuchung, bei welcher bei allen Tieren zahlreiche bis sehr zahlreiche Magendarmwurmeier, zahlreiche Lungenwurmlarven und etwa bei der Hälfte der Tiere eine mäßige Ausscheidung von Leberegeleiern, Fasciola hepatica, nachgewiesen werden konnten, wurden alle Tiere am 23. Dezember 1968 mit CITARIN 5 % "Bayer" (2,5 ml/10 kg Körpergewicht), am 2. Januar 1969 mit BILEVON M^R "Bayer" in Tablettenform (1 Tablette/ 25 kg Körpergewicht) und am 9. Januar 1969 gegen noch vorhandenen Strongyloides-Befall mit THIBENZOLE "Therapogenwerk-Köln" (1 g Substanz/ 10 kg Körpergewicht) per os behandelt. Im Verlauf des Versuches waren die Tiere bei allen weiteren koprologischen Untersuchungen aufgrund der vorausgegangenen Behandlungen im wesentlichen frei von Parasiten.

b) Ratten

Für die Untersuchungen an Ratten wurden weibliche Tiere des Wistar-Stammes mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von etwa 120 g zu den Versuchen herangezogen. Sie wurden in Gruppen zu 10 Tieren in MAKROLON^R-Käfigen, Typ III gehalten. Als Einstreu dienten Sägespäne, die zweimal wöchentlich erneuert wurden. Die Fütterung der Tiere erfolgte mit Altromin R, Alleinfutter für Ratten und Mäuse (Altromin GmbH, Lage). Trinkwasser wurde ad libitum verabreicht. Der Raum, in dem die Tiere gehalten wurden, hatte eine Temperatur zwischen 21 und 24°C.

c) Kaninchen

Zur Überprüfung der chemotherapeutischen Wirksamkeit bei Kaninchen wurden männliche und weibliche Tiere der Rasse "Helle Großsilber" in den Versuch genommen. Die Versuchstiere stammten aus der Landeszucht und waren bei einem durchschnittlichen Gewicht von 1000 g zum Zeitpunkt der Infektion ca. 5 bis 6 Wochen alt. Sie wurden bei Raumtemperatur in einem nichtklimatisierten Raum in Einzelboxen auf Drahtrosten gehalten. Als Nahrung erhielten sie pellettiertes Fertigfutter Erka Z 6000 (Fa. Hoch, Hamm) sowie Wasser ad libitum. Um einer Erkrankung durch Coccidien vorzubeugen, wurde in den ersten 8 Wochen nach Aufstallung alle zwei Wochen für 3 Tage Sulfadimethoxin-Diaveridin (3 : 1), das fabrikmäßig dem pellettierten Futter in einer Dosis von 250 mg/100 g Futter beigemischt worden war, den Tieren verabreicht.

2. Infektion der Versuchstiere

a) Schafe

Die zur experimentellen Infektion der Schafe notwendigen Metacercarien von Fasciola hepatica wurden dem Institut zur Verfügung gestellt und stammten zum Teil vom November/Dezember 1968 und teilweise vom Februar 1969. Die auf Grashalmen befindlichen Metacercarien wurden unter der Lupe ausgezählt. Zur Infektion der Tiere am 1.4.1969 wurden den Schafen der Gruppen 2 - 9 jeweils 500 Metacercarien (160 Metacercarien vom Februar 1969 und 340 Metacercarien vom November/Dezember 1968) in Gelatinekapseln mithilfe einer Kornzange per os verabreicht; die Schafe der Gruppe 1 dienten als nicht infizierte, unbehandelte Kontrolle.

b) Ratten und Kaninchen

Zur Infektion der Ratten und Kaninchen wurden ca. 2 - 3 Wochen alte Metacercarien verwendet, die in eigenen Versuchen gewonnen wurden. Hierzu diente als Zwischenwirt Lymnaea tomentosa, die am hiesigen Institut gezüchtet und gehalten wird. Infektion, Haltung, Fütterung der Schnecken sowie die Gewinnung der Cysten wurde nach BORAY (1963) durchgeführt. Die auf Cellophanpapier enzystierten Metacercarien wurden morphologisch begutachtet, die entsprechende Zahl pro Tier ausgezählt und den Ratten mit einer Pinzette per os eingegeben. Die Infektion der Ratten erfolgte zunächst mit 10 Metacercarien pro Tier für den Vorversuch und den 1. Hauptversuch. Für den 2. Hauptversuch wurden 20 Metacercarien pro Tier verabreicht. Jeweils 5 Tiere dienten als nicht infizierte, unbehandelte Kontrolle.

Zur Infektion der Kaninchen wurde entsprechend vorgegangen und 40 Metacercarien pro Tier verabreicht. Für den Sektionsversuch 1 diente ein Tier als unbehandelte Kon-

trolle, fünf weitere Tiere wurden zur Behandlung herangezogen. Für den Sektionsversuch 2 standen zwölf Tiere zur Verfügung, davon wurden zwei Tiere als unbehandelte Kontrolle verwendet.

3. Untersuchungsmethoden

a) Sektion der Schafe

Die Schlachtung der Schafe zur Auswertung des Versuches erfolgte 104 - 108 Tage p. i. Nach Eröffnen der Bauchhöhle wurden die Lebern einschließlich Gallenblase und Ductus choledochus sowie dem mit diesem in natürlichem Zusammenhang befindlichen Dünndarmstück herausgenommen und in gekennzeichnete Plastikschaalen gelegt.

Bei der Untersuchung auf Leberegelbefall wurde

1. der vorhandene Dünndarm und sein Inhalt überprüft,
2. Ductus choledochus, Gallenblase und ihr Inhalt untersucht,
3. die großen Gallengänge mit einer Schere aufgeschnitten und auf Leberegel überprüft,
4. die Leber in fingerdicke Scheiben geschnitten und die Schnittflächen hinsichtlich des Leberegelbefalls kontrolliert,
5. die Scheiben für 18 Stunden bei ungefähr 25°C in physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt, so daß auch die noch unter Umständen in den kleinen Gallengängen befindlichen Leberegel auswandern konnten.

Bei der Auswertung des Schafversuches wurden alle Lebern einer kurzen Untersuchung auf makroskopisch nachweisbare pathologisch-anatomische Veränderungen unterzogen. Die bei der Sektion isolierten Leberegel wurden größtmäßig erfaßt.

b) Sektion der Ratten und Kaninchen

Bei der Ratte wurde etwa 10 Tage nach der Behandlung die Ansitzrate von Fasciola hepatica bestimmt. Nach Eröffnen der Bauchhöhle und Verlagerung des Magen-Darmtraktes zur Seite zeigte sich die ampullenförmige Erweiterung, die mit einer Schere geöffnet und auf vorhandene Leberegel überprüft wurde.

Entsprechend der Sektion der Schafe wurde die Leber der Kaninchen nach Eröffnen der Bauchhöhle mit Ductus choledochus und einem Dünndarmstück in einer Schale untersucht. Nach Überprüfung des Dünndarmstückes und seines Inhaltes, des Ductus choledochus, der Gallenblase und der eröffneten großen Gallengänge, wurde die in kleine Scheiben zerlegte Leber in physiologischer Kochsalzlösung im Brutschrank bei 37° C belassen, um die Auswanderung weiterer Egel zu ermöglichen. Die Auswertung der Versuche erfolgte nach LÄMMLER (1955).

c) Gewichtskontrolle und klinisch-chemische Untersuchungen

Die Untersuchung der Schafe erfolgte 49, 41 und 7 Tage vor Infektion sowie in 14tägigen Abständen nach der Infektion bis zur 14. Woche post infectionem. Jeweils einen Tag vor den Terminen wurden alle Tiere gewogen. Am nächsten Morgen wurde vor der Fütterung Blut aus der Jugularvene entnommen und in zwei Zentrifugenröhrchen abgefüllt. Das eine Röhrchen diente zur Serumgewinnung, während das andere heparinisiertes Blut enthielt, das zur Hämatokrit- und Hämoglobinbestimmung herangezogen wurde. Das nicht heparinisierte Blut wurde zur Serumgewinnung für etwa 30 Minuten im Kühlschrank bei etwa 4° C belassen. Nach Koagulation erfolgte eine 30 Minuten lange Zentrifugation bei ca. 3000 g. Bis zur Untersuchung maximal zwei Tage nach der Blutgewinnung blieb das in Eppendorff-Reaktionsgefäße abgefüllte Serum im Kühlschrank bei 4° C.

1. Bestimmung von Hämatokrit und Hämoglobingehalt des Blutes

Die Untersuchung des Hämatokrits wurde nach SCHALM (1965) im Mikrohämatokritverfahren durchgeführt. Die Hämoglobinbestimmung richtete sich nach BETKE und SAVELSBERG (1950). Prinzip dieser Bestimmung ist es, daß Kaliumferricyanid Hämoglobin zu Hämiglobin oxydiert, das dann mittels Kaliumcyanid zu Hämiglobincyanid umgewandelt wird. Dieses besonders stabile Hämoglobinderivat bleibt über Tage unverändert und hat ein breites Absorptionsspektrum mit einem Maximum bei 540 nm, das photometrisch mit Photometer Eppendorff 1101 M ausgewertet wurde. Die Ergebnisse liegen in g Hb/100 ml Blut vor.

2. Bestimmung des Gesamtproteingehalts und des Albumin-Globulin-Quotienten

Die Serumeiweißbestimmung erfolgte mit der bei Eppendorff beschriebenen Biuret-Methode mittels photometrischer Auswertung (Photometer Eppendorff 1101 M) und Darstellung der Werte in g Eiweiß/100 ml Serum. Zur Bestimmung der Albumin-Globulin-Quotienten wurde das Serum der einzelnen Tiere auf einer Cellulose-Acetatfolie Sartoriusmembranfilter (SM 11200) mit der Boskamp-Apparatur (Boskamp-Gerätebau KG, Hersel) elektrophoretisch aufgetrennt (Puffer: 0,015 mol/kg Diäthylbarbitursäure, 0,075 mol/kg Na-Diäthylbarbitursäure; pH 8,6; μ 0,075; 250 V; 25 min.). Die Folien wurden mit Amido-Schwarz 10 B angefärbt und densitometrisch ausgewertet (Photometer Eppendorff 1101 M).

3. Bestimmung der Enzyme

Zur Messung der Enzymaktivitäten von GOT, GPT, GLDH, LDH, α -HBDH und SDH fanden Testsätze und Arbeitsvorschriften der Firma Boehringer und Söhne, Mannheim, Verwendung. Die Versuche wurden im UV-Test am Eppendorff

Photometer 1101 M ausgeführt. Grundlage dieser enzymatischen Tests nach WARBURG ist die Lichtabsorption eines an der Reaktion teilnehmenden Koenzymes. Die Absorption des reduzierten Nicotinamid-adenin-dinucleotids oder Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphats dient als Basis für derartige Messungen.

Hämatokrit, Hämoglobin, Gesamtprotein und Albumin-Globulin-Verhältnis sowie die Enzyme GOT, GPT und GLDH wurden innerhalb von 2 Tagen nach der Serumgewinnung durchgeführt. LDH, α -HBDH und SDH wurden bei Seren untersucht, die sofort nach der Serumgewinnung tiefgefroren und bei -18° C gelagert waren. Die Enzymaktivitäten sind in Millieinheiten/ml Serum ausgedrückt (mU).

4. Chemotherapeutische Untersuchungen

Bei dem zur Prüfung vorliegenden Präparat Rafoxanide (MK 990), Fa. Merck, Sharp & Dohme, Rahway/USA, handelt es sich um eine 3,035%ige Suspension des Wirkstoffes 3,5-Dijod-3-chlor-4'-(p-chlorphenoxy)-salicylanilid, eine Substanz aus der Gruppe der halogenierten Salicylsäure-anilide. Die Suspension wurde nach mehrmaligem Umschütteln in eine Rekordspritze mit Knopfkanüle aufgezogen und langsam in den Rachen der Schafe injiziert. Gruppeneinteilung, Behandlungsdosis und -zeitpunkt sind in der nachstehenden Tabelle übersichtlich dargestellt.

Ebenso wie beim Schaf wurde das Präparat auch zur Behandlung der Ratten und Kaninchen nach Umschütteln mit einer Spritze per os verabreicht. Hierbei wurde die Suspension den Ratten mittels einer auf die Spritze aufgesetzten Schlundsonde direkt in den Magen, den Kaninchen in den Rachen appliziert.

Gruppe	28 Tage p. i.	42 Tage p. i.	56 Tage p. i.	84 Tage p. i.
1	nicht infizierte, unbehandelte Gruppe			
2	infizierte, unbehandelte Gruppe			
3	10 mg/kg			
4	15 mg/kg			
5		10 mg/kg		
6		15 mg/kg		
7			10 mg/kg	
8				10 mg/kg
9				5 mg/kg

In den Rattenversuchen wurden, nach Feststellung der im Kot ausgeschiedenen Eier von Fasciola hepatica mit Hilfe des TELEMANN-Verfahrens zu Beginn der Patenz etwa 10 Wochen nach der Infektion, zur groben Festlegung der Dosis curativa zunächst vier Ratten 10, 20, 40 und 80 mg/kg Körpergewicht oral verabreicht. Im weiteren Versuchsverlauf wurden mit absteigenden Dosierungen von 80, 60, 50, 40, 30, 20 (10 Metacercarien / Tier) und 10 mg (20 Metacercarien / Tier) jeweils eine Gruppe von fünf Ratten behandelt.

Im Kaninchensektionsversuch 1 wurde etwa 11 Wochen p.i. nach positiver koprologischer Untersuchung auf Leberegel-eier eine orale Behandlung mit 50, 40, 30, 20 und 10 mg/kg Körpergewicht durchgeführt, während im 2. Versuch das Präparat in Dosen von 20, 15, 10, 5 und 2,5 mg/kg Körpergewicht verabreicht wurde.

B) Ergebnisse

1. Die chemotherapeutische Wirksamkeit von Rafoxanide

a) Befunde bei Fasciola hepatica infizierten Schafen

Die Lebern der nicht infizierten Schafe waren von physiologischer Gestalt und Konsistenz. Da 14 Wochen nach der Infektion alle Leberegel sich in den Gallengängen angesiedelt hatten, konnte bei der Sektion der Gruppe 2, der infizierten, unbehandelten Kontrolle das Bild einer Cholangitis catarrhalis chronica distomatosa festgestellt werden. Neben einer bindegewebigen Wandverdickung fiel besonders die starke Erweiterung der Gallengänge auf. Verkalkungen, wie sie für die Fasciolose der Rinder typisch sind, konnten nicht festgestellt werden. Die durch die Wanderphase von Fasciola hepatica hervorgerufenen akuten Zerstörungen des Lebergewebes waren zur Zeit der Sektion durch eine fibrinöse Umwandlung des Granulationsgewebes als graulich-weiße Flecken gekennzeichnet.

Auch bei Gruppe 3, die 28 Tage p. i. mit Rafoxanide in einer Dosis 10 mg/kg Körpergewicht oral behandelt wurde, konnten charakteristische Veränderungen der Fasciolose festgestellt werden. Jedoch bestimmten in dieser Gruppe auch erbsengroße Knoten von grauweißlicher Farbe mit schmutzig-braunem, schmierigen Inhalt das pathologisch-anatomische Bild der Leber. Sie waren häufig an der visceralen Fläche des linken Leberlappens anzufinden. Diese Distomenknötchen zeigten sich besonders bei Tier 21 mit nur einem Leberegel sowie bei alten Schafen der Gruppen 4 bis 7. Die pathologischen Befunde der Gruppen 8 und 9, die zwei Wochen vor der Sektion behandelt worden waren, entsprachen dem Bild der Cholangitis catarrhalis chronica distomatosa.

Im einzelnen konnten bei der Untersuchung der Schafe die in Tabelle 15 zusammengefaßten Ergebnisse ermittelt werden. Aus der Übersicht geht hervor, daß bei der nicht infizierten Kontrollgruppe 1 keine von einer früheren Infektion stammende Leberegel, Fasciola hepatica, gefunden werden konnten.

Von 500 verabreichten Metacercarien der infizierten, aber unbehandelten Kontrollgruppe 2 wurden bei der Sektion 14 Wochen p. i. im Durchschnitt 76,4 Leberegel wiedergefunden. Dies entspricht einer prozentualen Ansitzrate von 15,3 % bei 500 Metacercarien pro Tier und einer solchen von 47,8 % bei 160 Cysten des großen Leberegels pro Schaf.

Das Präparat Rafoxanide bewirkte nach Verabreichung einer oralen Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht, 4 Wochen p. i., eine Reduktion des Leberegelbefalls im Vergleich zur Kontrollgruppe 2 von 66 %. Dieser Wert erhöhte sich auf 93,1 % bei einer Dosis von 15 mg/kg Körpergewicht.

Die Wirkung gegen jugendliche Leberegel betrug nach Verabreichung einer oralen Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht, 6 Wochen p. i., ebenfalls 93,1 % und im Falle einer Dosis von 15 mg/kg Körpergewicht bereits 99,1 %. Dieser Effekt entspricht in etwa der Wirksamkeit nach Verabreichung einer Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht, 8 Wochen p. i., mit einer Reduktion von 98,9 %. Gegen die geschlechtsreifen Leberegel von Fasciola hepatica, 12 Wochen p. i., erwies sich sowohl eine Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht per os als auch eine solche von 5 mg/kg Körpergewicht 100%ig wirksam.

Alle Schafe zeigten nach Verabreichung der unterschiedlich hohen Dosen von Rafoxanide zu keinem Zeitpunkt irgendwelche Störungen des Allgemeinbefindens.

Die in den Gruppen 2 - 7 bei der Sektion der Schafe aus den Gallengängen isolierten Leberegel wurden auf ihre Größe untersucht und aufgrund ihres Längsdurchmessers in die in Tabelle 16 zusammengefaßten Größenordnungen eingeteilt.

Tabelle 15: Wirksamkeit von Rafoxanide gegen jugendliche und geschlechtsreife Stadien von Fasciola hepatica

Gruppe	Dosis in mg/kg Kgw.	Wochen p. i.	Zahl der Schafe	Anzahl der Leberegel bei der Schlachtung	prozentuale Reduktion (Wirkung in %)
1	-	-	6	0	0
2	-	-	5	114, 70, 36, 52, 110 ⁺⁺	76,4 ⁺ (36 - 114)
3	10	4	6	49, 29, 12, 49, 1, 16,	26,0 (1 - 49)
4	15	4	6	9, 3, 3, 5, 3, 9,	5,3 (3 - 9)
5	10	6	6	5, 5, 1, 1, 19, 1	5,3 (1 - 19)
6	15	6	6	3, 0, 1, 0, 0, 0	0,67 (0 - 3)
7	10	8	6	3, 1, 1, 0, 0, 0	0,83 (0 - 3)
8	10	12	6	0	0,00
9	5	12	6	0	0,00

⁺ Die prozentuale Ansitzrate der infizierten, unbehandelten Kontrollgruppe betrug 15,3 %.

⁺⁺ Ein Tier starb durch Erhängen in der Futtergrippe kurz nach der Infektion.

Tabelle 16: Übersicht über die Größenverteilung der bei den Schafen der Gruppen 2 - 7 gefundenen Leberegel

Gruppe	Größe der Leberegel in mm und ihre prozentuale Verteilung			
	5,0 - 9,9	10,0 - 14,9	15 - 19,9	20,0 - 26,9
2	13(3,4 %)	85 (22,3 %)	216(56,5 %)	68 (17,8 %)
3	21(13,5 %)	87 (55,8 %)	47(30,1 %)	1 (0,6 %)
4	11(34,4 %)	19 (59,4 %)	2 (6,2 %)	0
5	10(31,3 %)	22 (68,7 %)	0	0
6	1(25,0 %)	3 (75,0 %)	0	0
7	2(40,0 %)	3 (60,0 %)	0	0

2. Befunde bei Fasciola hepatica infizierten Ratten und Kaninchen

Im Falle der mit Fasciola hepatica infizierten Ratten konnten bei den mit 10 Metacercarien infizierten Versuchstieren der unbehandelten Gruppe je ein Leberegel pro Ratte gefunden werden, was einer Ansitzrate von 10 % entspricht.

Da in den chemotherapeutischen Untersuchungen (siehe Tabelle 17) das Präparat in einem Vorversuch mit 80 mg/kg Körpergewicht per os 100%ig wirksam war, jedoch 40, 20 und 10 mg/kg Körpergewicht keine Wirkung gezeigt hatten, wurden in einem 2. Versuch Dosen von 80 und 60 mg/kg Körpergewicht geprüft. Auch diese Dosierungen erwiesen sich als 100%ig wirksam. Zu den weiteren Versuchen wurden die mit 20 Metacercarien von Fasciola hepatica infizierten Ratten herangezogen, bei welchen 5 unbehandelte Kontrolltiere einen Befall mit durchschnittlich drei Leberegeln aufwiesen. Das Ergebnis entspricht in dieser Gruppe einer Ansitzrate von 15 %.

Die Behandlung von je 5 Ratten mit Rafoxanide in einer Dosis von 50 mg/kg Körpergewicht führte zu einer 100%igen Eliminierung der Leberegel, während Dosen von 40 und 30 mg/kg per os den Leberegelbefall um jeweils 93,3 % reduzierten. Auch bei den mit 20 mg/kg p. o. behandelten Ratten konnte noch eine Reduktion der Ansitzrate von 53,3 % festgestellt werden.

Tabelle 17: Wirksamkeit von Rafoxanide gegen adulte Leberegel bei der Ratte

Gruppe	Metac. pro Tier	Dosis mg/kg p. o.	Anzahl Ratten	Anzahl lebender pro Ratte	Gesamtzahl	Mittelwert	Reduktion in %
Vorversuch	10	0	4	1	4	1	Kontrolle
		80	1	0	0	0	100
		40	1	1	1	1	0
		20	1	1	1	1	0
		10	1	3	3	3	0
1.Ver- such	10	80	5	0	0	0	100
		60	5	0	0	0	100
2.Ver- such	20	0	5	5,3,2,2,3	15	3	Kontrolle
		50	5	0,0,0,0,0	0	0	100
		40	5	0,0,0,1,0	1	0,20	93,3
		30	5	0,0,0,0,1	1	0,20	93,3
		20	5	2,2,1,2,0	7	1,4	53,3

Im Vergleich zu den bisher an Fasciola hepatica infizierten Schafen und Ratten durchgeführten Versuchen wurde Rafoxanide auch an infizierten Kaninchen geprüft, obgleich die mit 40 Cysten von Fasciola hepatica infizierten Tiere bei der koprologischen Untersuchung nur eine geringe Leberegelausscheidung aufwiesen. Bei den in einem 1. Sektionsversuch mit Dosen von 50, 40, 30, 20 und 10 mg/kg Körpergewicht oral behandelten Tieren konnten die in Tabelle 18 zusammengefaßten Befunde erhoben werden.

Tabelle 18: Wirksamkeit von Rafoxanide gegen adulte Leberegel im Kaninchenversuch

Dosis mg/kg per os	LU	LN	NZ	GS	LZ	Wirkung in %
50	0	6	0,8,1,0 1,0,1,0 1,0,1,0	5,8	6	96,7
40	0	2	1,0,1,0	2,0	2	100,0
30	0	1	1,0	1,0	1	100,0
10	0	1	0,5	0,5	1	50,0

LU = Leberegel unbeschädigt, LN = Leberegel nekrotisiert, NZ = Nekroseziffer, GS = Gesamtschädigung, LZ = Zahl der Leberegel, W = Wirkung in %.

In einem zweiten Versuch an Fasciola hepatica infizierten Kaninchen wurden mit Dosen von 20, 15, 10, 5 und 2,5 mg/kg per os die in Tabelle 19 detailliert dargestellten Ergebnisse erzielt.

Aus den Versuchen geht deutlich hervor, daß Rafoxanide sowohl bei Fasciola hepatica infizierten Ratten als auch bei infizierten Kaninchen sehr gut wirksam ist, obgleich diese Ergebnisse nur an einem kleinen Tiermaterial mit einer relativ geringen Ansitzrate erzielt werden konnten. Die Befunde des Sektionsversuches beim Kaninchen zeigen weiterhin, daß die fasciolicide Wirksamkeit des Präparates sehr schnell zu einem Absterben der Leberegel führt. Die nekrotisierten Parasiten werden sehr frühzeitig über die Gallenwege ausgeschieden und konnten daher bei der Sektion 48 Stunden nach der Behandlung nicht mehr nachgewiesen und in die Bewertung einbezogen werden. In gleicher Weise wie bei Schafen, konnten auch bei Ratten und Kaninchen in den verabreichten Dosen keine Anzeichen einer Störung des Allgemeinbefindens beobachtet werden.

Tabelle 19: Wirksamkeit von Rafoxanide gegen adulte Leber-
egel im Kaninchenversuch

Dosis mg/kg per os	Anzahl Kaninch.	LU	LN	NZ	GS	LZ	Wirkung in %
0	1	5				5	Kontrolle
0	1	4				4	Kontrolle
20	1	0				0	100
20	1	0				0	100
15	1	0				0	100
15	1	0				0	100
10	1	0				0	100
10	1	0	1	1,0	1,0	1	100
5	1	0				0	100
5	1	0	1	0,7	0,7	1	70
2,5	1	9				9	0

2. Einfluß der Chemotherapie auf die pathophysiologischen Veränderungen des Blutes beim Schaf

In der vorliegenden Versuchsreihe wurde über die quantitative Auswertung der chemotherapeutischen Wirksamkeit von Rafoxanide hinaus den zeit- und dosisabhängigen Auswirkungen einer spezifischen Fasciolosetherapie auf die pathophysiologischen Veränderungen des Blutes beim Schaf besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Dabei wurde der Verlauf der Gewichtsentwicklung in den einzelnen Versuchsgruppen als weiteres Kriterium berücksichtigt.

a) Ergebnisse in der nicht infizierten, unbehandelten Kontrollgruppe 1

1. Entwicklung des Körpergewichtes

In der Entwicklung des Körpergewichtes der nicht infizierten, unbehandelten Kontrollgruppe 1 konnte in der Zeit vor dem Infektionstermin (der Gruppen 3 - 8) eine zweiwöchentliche Gewichtszunahme von 2,3 kg festgestellt werden. Diese ermäßigte sich in den weiteren 98 Tagen des Versuchs auf eine zweiwöchentliche, durchschnittliche Gewichtszunahme von 1,7 kg. In den ersten 4 Wochen betrug diese Zunahme in jeweils 14 Tagen 2,9 kg, in der 5. und 6. Woche 2,0 kg, in der 7. und 8. Woche 1,8 kg und in der 9. - 10. bzw. 11. - 12. Woche bis 1,5 kg.

2. Hämatokrit und Hämoglobingehalt

Die im Verlauf des Versuches ermittelten Hämatokritprozentwerte lagen durchschnittlich bei 30,6 mit einem Höchstwert von 33,0 zu Beginn und 28,2 am Ende des Versuches. Der Hämoglobingehalt schwankte zwischen 13,3 und 9,9 g/100 ml Blut entsprechend der Hämatokritbestimmung mit einem Mittelwert von 11,1 g/100 ml Blut.

3. Gesamtprotein und Albumin-Globulin-Quotient

Die Gesamtproteinmenge betrug anfangs 6,18 g/100 ml Serum und stieg dann langsam auf 6,76 g/100 ml Serum am Ende des Versuches an. Der Mittelwert betrug 6,45 g/100 ml Serum mit einer Schwankungsbreite von 6,17 bis 6,82 g/100 ml Serum.

Das Verhältnis der Albumine zu den Globulinen im Serum wurde durch den Albumin-Globulin-Quotienten dargestellt und schwankte bei einem Mittelwert von 1,41 zwischen 1,26 und 1,60 (s. Abbildung 1).

4. Enzyme

Zur Bestimmung des Mittelwertes bei den Enzymaktivitäten von GOT, GPT und GLDH konnten 10 Untersuchungen von LDH, -HBDH und SDH 5 Untersuchungen herangezogen werden. Die GOT-Aktivitäten schwankten zwischen 38,7 mU/ml und 56,2 mU/ml bei einem durchschnittlichen Wert von 47,3 mU/ml Serum, GPT zwischen 4,4 und 12,5 mU/ml (Mittelwert 7,4 mU/ml), GLDH zwischen 2,9 und 9,2 mU/ml (Mittelwert 5,4 mU/ml). LDH-, -HBDH- und SDH-Serumaktivitäten zeigten Mittelwerte von 438,0 mU/ml (366,3 - 528,0) für LDH, 271,2 mU/ml (222,2 - 326,7) für α -HBDH und von 5,1 mU/ml (3,8 - 6,4) für SDH (s. Abb. 2, 3 u. 5 und Tabelle 20).

Tabelle 20: Übersicht über die Ergebnisse klinisch-chemischer Untersuchungen an gesunden Schafen (Mittelwerte der nicht infizierten, unbehandelten Kontrolle Gruppe 1)

Tge. a.i. bzw. p.i.	Gew. in kg	Häma- tokr. in %	Hb g/ 100 ml Blut	GP g/ 100 ml Ser.	Alb.- Glob. Quot.	Enzymaktivitäten in mU/ml Serum					
						GOT	GPT	GLDH	LDH	α -HBDH	SDH
a.i.											
50	44,8	33,0	13,3	6,18	1,34	56,2	12,5	9,2			
42	48,8	29,6	11,3	6,48	1,41	46,2	6,2	3,4			
7	51,5	31,3	11,2	6,22	1,43	46,4	4,4	3,9			
p.i.											
14	55,0	30,3	10,7	6,17	1,42	43,6	6,0	5,3			
28	57,3	30,1	10,7	6,31	1,41	38,7	6,8	2,9			
42	57,5	30,6	10,5	6,45	1,26	46,6	5,1	4,3	366,3	222,2	4,8
56	58,8 ⁺ 54,8	31,1	11,2	6,56	1,50	49,5	9,1	5,3	528,0	304,2	5,3
70	56,4	30,8	11,1	6,51	1,60	49,1	8,1	7,9	457,7	262,0	6,4
84	56,8	31,2	11,0	6,82	1,34	49,2	6,9	5,2	440,7	326,7	5,2
98	59,5	28,2	9,9	6,76	1,39	47,0	8,5	6,8	397,2	240,8	3,8

⁺ Zeitpunkt der Schur

b) Ergebnisse in der infizierten, unbehandelten Kontroll-
gruppe 2

1. Entwicklung des Körpergewichtes

Gruppe 2, die mit 500 Metacercarien von Fasciola hep-
tica infiziert, aber nicht behandelt worden war, wies wie
Gruppe 1 vor der Infektion eine zweiwöchentliche Gewichts-
zunahme von 2,3 kg auf. Nach der Infektion konnte zunächst
eine vierzehntägige Gewichtszunahme von nur 1,1 kg festge-
stellt werden. Zwischen dem 28. und 56. Tag p. i. ergab
sich eine Gewichtsabnahme von durchschnittlich 0,2 kg, zwi-
schen Tag 70 und 84 eine solche von 1,1 kg des Körperge-
wichtes.

2. Hämatokrit und Hämoglobingehalt des Blutes

Der Hämatokritwert lag bei einem Mittelwert von 31,3 %
(33,8 - 29,5 %), der Hämoglobingehalt bei 11,4 g/100 ml
Blut (14,7 - 10,3).

3. Gesamtprotein und Albumin-Globulin-Quotient

Der Gesamteiweißgehalt im Serum stieg von anfangs
6,09 g/100 ml auf 7,41 g/100 ml Serum bei einem durch-
schnittlichen Gehalt von 6,73 g/100 ml Serum an.

Vor der Infektion mit 500 Metacercarien schwankte der
Albumin-Globulin-Quotient zwischen 1,17 und 1,30. Nach
Verabreichung der Cysten des großen Leberegels fiel er
bis Ende des Versuches auf 0,78, wobei eine vorüberge-
hende Steigerung von 1,00 auf 1,23 zwischen der 4. und
8. Woche p. i. hervortrat (s. Abb. 1).

4. Enzyme

a) Transaminasen

Bis 14 Tage nach der Infektion entsprachen die gemessenen GOT-Enzymaktivitäten denen der nicht infizierten, unbehandelten Kontrollgruppe 1 und lagen zwischen 57,3 und 43,2 mU/ml Serum; von diesem Zeitpunkt an stiegen diese dann auf etwa den Ausgangswert von 58,4 mU/ml 56 Tage p.i. an, um dann 10 Wochen p. i. stark auf 103,7 mU/ml anzuschwellen. Zum Zeitpunkt der 6. und 7. Untersuchung p. i., also 12 und 14 Wochen p. i., waren die GOT-Aktivitäten wieder auf 63,1 und 59,3 mU/ml gefallen (s. Abb. 3).

Die Enzymaktivitäten der GPT in der infizierten aber unbehandelten Gruppe 2 zeigten keine Veränderung während des Versuchsverlaufes und lagen im Bereich der bei Gruppe 1 gefundenen Werte mit einem Mittelwert von 6,4 (8,9 - 4,1).

b) GLDH

Bis etwa 14 Tage nach der Infektion näherten sich die GLDH-Untersuchungs-Ergebnisse beider Gruppen an und tendierten zwischen 10,8 und 8,2 mU/ml bei Gruppe 2.

Im Verlauf von weiteren 4 Wochen, also 6 Wochen p. i., konnte ein allmählicher geringer Anstieg auf 15,1 mU/ml Serum nachgewiesen werden, der in der 8. Woche nach der Infektion auf 10,0 mU/ml abfiel, um erneut in der 10. Woche p. i. eine Höhe von 18,9 mU/ml zu erreichen. Im Verlauf der nächsten 4 Wochen normalisierte sich der GLDH-Serumspiegel wieder und erreichte mit 8,3 mU/ml die in Gruppe 1 gefundenen Resultate (s. Abb. 5).

Tabelle 21: Übersicht über die Ergebnisse klinisch-chemischer Untersuchungen an mit 500 Metacercarien von *Fasciola hepatica* infizierten Schafen (Mittelwerte der infizierten, unbehandelten Kontrollgruppe 2)

Tge. a.i. bzw. p.i.	Gew. in kg	Häma- tokr. in %	Hb g/ 100 ml Blut	GP g/ 100 ml Serum	Alb.- Glob. Quot.	Enzymaktivitäten in mU/ml Serum					
						GOT	GPT	GLDH	LDH	α -HBDH	SDH
a.i.											
50	43,3	33,8	14,7	6,09	1,21	57,3	8,9	9,4			
42	48,1	32,5	12,3	6,74	1,17	51,6	7,5	10,8			
7	50,0	32,6	11,4	6,20	1,30	43,2	4,1	8,5	499,0	302,5	5,2
Infektion mit 500 Metacercarien											
p.i.											
14	51,3	31,4	11,1	6,23	1,27	46,2	6,5	8,2	422,8	279,8	9,8
28	55,0	30,6	10,8	6,68	1,00	52,8	6,5	12,5	392,3	287,0	14,1
42	54,7	30,3	10,5	6,68	1,13	56,9	4,9	15,1	453,2	293,7	10,0
56	54,6 ⁺ 51,2	32,4	11,5	6,84	1,23	58,4	7,6	10,0	655,4	450,6	11,9
70	53,5	29,9	10,6	7,05	0,98	103,7	6,5	18,9	789,8	467,0	12,2
84	52,4	29,8	10,3	7,40	0,77	63,1	4,2	11,1	664,3	518,8	13,4
98	54,6	29,5	10,5	7,41	0,78	59,3	7,1	8,3	471,6	279,6	6,7

⁺ Zeitpunkt der Schur

Die Mittelwerte wurden bis 42 Tage p. i. von 6, danach nur noch von 5 Tieren berechnet, da ein Schaf durch Erhängen in der Futterkrippe starb.

c) LDH und α -HBDH

Bei vier Untersuchungen bis zur 6. Woche nach der Infektion schwankten die LDH-Enzym-Aktivitäten im Bereich der von Gruppe 1 und zeigten Werte von 499,0 bis 392,3 mU/ml Serum. Auf den nun folgenden Anstieg auf 789,8 mU/ml bei der Untersuchung 10 Wochen p. i. folgte in den weiteren vier Wochen, wie bei GLDH, wieder ein Abfall auf 471,6 mU/ml zum Aktivitätsspiegel der Gruppe 1 (s. Abb. 2).

Entsprechende Verlaufskurven zeigten sich für α -HBDH, nur daß hier der Höhepunkt etwa 12 Wochen p. i. mit 518,8 mU/ml nachweisbar war (s. Abb. 2).

d) SDH

Die SDH-Verlaufskurve zeigte schon kurz nach der Infektion eine geringe Steigerung der Aktivität mit zwei deutlichen Höhepunkten 4 und 12 Wochen p. i. und Werten von 14,1 und 13,4 mU/ml Serum, die durch erhöhte Aktivitäten von 10,0 sechs Wochen p. i., 11,9 acht Wochen p. i. und 12,2 zehn Wochen p. i. verbunden waren. Vierzehn Wochen p. i. entsprachen aber die gefundenen Resultate wieder denjenigen vor der Infektion (s. Abb. 1 u. Tabelle 2).

c) Ergebnisse in den infizierten, behandelten Gruppen 3 - 8

1. Entwicklung des Körpergewichtes

Die Feststellungen über die Gewichtszunahme vor der Infektion zeigen, daß die Gruppen 3-8 einen 14-tägigen Zuwachs von 1,5 bis 4,9 kg verzeichnen konnten. In den Gruppen 3 und 4 lag diese Zunahme bis zur Behandlung 4 Wochen p. i. bei 2,4 bzw. 2,2 kg. Trotz der chemotherapeutischen Beeinflussung des Parasitenbefalls konnte später nur noch ein Zuwachs innerhalb von 2 Wochen mit 0,95 und 0,60 kg festgestellt werden.

ALBUMIN-GLOBULIN-QUOTIENT

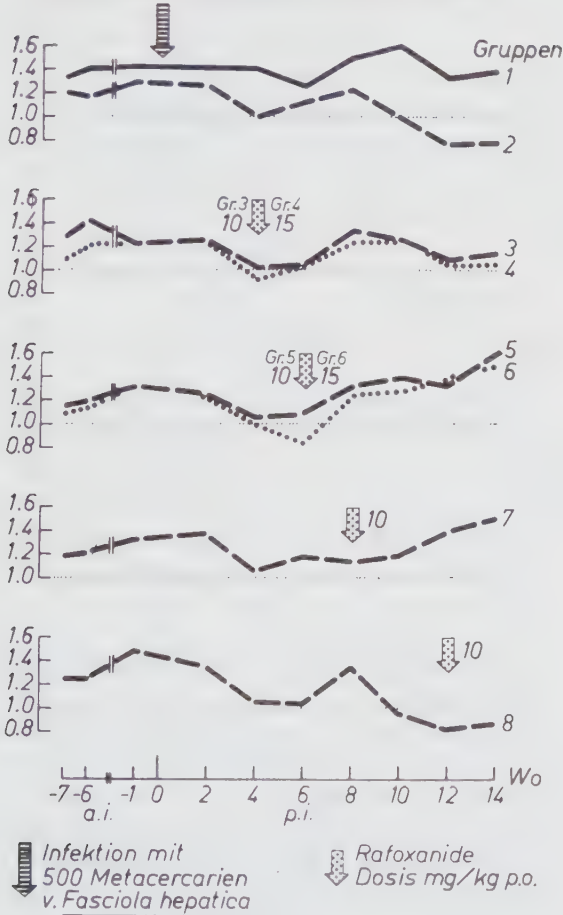


Abbildung 1: Darstellung der Albumin-Globulin-Quotienten im Serum der nicht infizierten und infizierten, unbehandelten Schafe der Gruppen 1 und 2 sowie der infizierten und behandelten Schafe der Gruppen 3 - 8

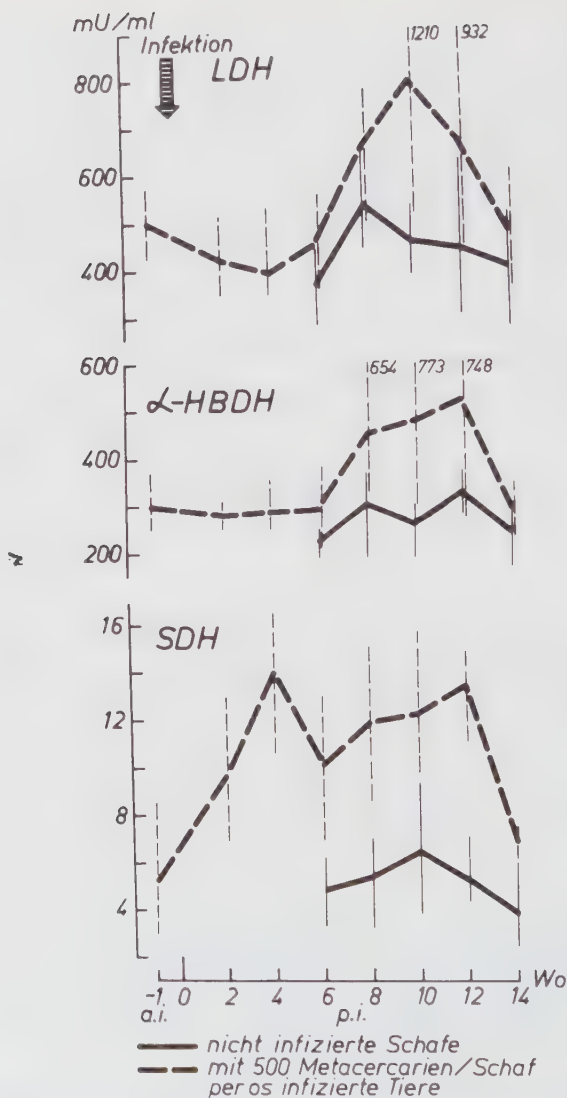


Abbildung 2: Darstellung der Enzymaktivitäten der LDH, α -HBDH und SDH im Serum der nicht infizierten und infizierten, unbehandelten Schafe der Gruppen 1 und 2

Die Gruppen 5 und 6 wurden 6 Wochen p. i. behandelt. Bis zu diesem Zeitpunkt war eine zweiwöchentliche Steigerung des Körpergewichtes von 0,16 (Gruppe 5) bzw. eine Abnahme von 0,13 kg (Gruppe 6) festzustellen, das nach der Behandlung durch eine Zunahme von 1,3 bzw. 1,9 kg gekennzeichnet war. Vor der Beeinflussung des Parasitenbefalls durch eine Behandlung mit Rafoxanide 56 und 84 Tage p. i., nahm das Körpergewicht in den Gruppen 7 und 8 alle 14 Tage um 0,27 bzw. 0,36 kg zu, während diese Zunahme nach der Behandlung 1,3 bzw. 1,0 kg betrug.

2. Hämatokrit und Hämoglobingehalt des Blutes

Der mittlere Hämatokritwert der 6 untersuchten Gruppen lag zwischen 31,3 und 33,5 %, wobei die Werte in den einzelnen Gruppen 28,8 und 35,3 % nicht unter- oder überschritten. Entsprechend schwankte der Hämoglobingehalt zwischen 11,5 und 11,9 g/100 ml Blut (9,9 - 15,4 g/100 ml Blut).

3. Gesamtprotein und Albumin-Globulin-Quotient

Bei den Gruppen 3 - 8 war ein Ansteigen der Gesamtproteine im Serum von anfangs 5,76 bis 6,47 auf 7,14 bis 7,94 g/100 ml Serum zu verzeichnen. Das Albumin-Globulin-Verhältnis entsprach bis etwa zwei Wochen nach der Fasciola hepatica-Infektion in den Gruppen 3 und 4 dem der nicht infizierten Kontrolle. Innerhalb von zwei weiteren Wochen fiel nun der Albumin-Globulin-Quotient in den infizierten Gruppen auf 1,03 bzw. 0,93, um bis zur 8. Woche p. i. wieder auf etwa 1,34 bzw. 1,24 anzusteigen. Der nun folgende Abfall des Quotienten über 6 Wochen endete bei Werten von 1,14 und 1,04.

Die Gruppen 5 und 6 verhielten sich in ihrem Albumin-Globulin-Verhältnis während der Wochen vor und nach der Infektion bis 4 Wochen p. i. wie die Gruppen 3 und 4.

Die Gruppe 5 zeigte ihren niedrigsten Quotientenwert mit 1,08 vier Wochen p. i.; bei Gruppe 6 lag dieser sechs Wochen p. i. bei 0,84. Der nun folgende steile Anstieg des Quotienten in den Gruppen 5 und 6 erreichte mit Werten von 1,31 und 1,24 acht Wochen p. i. die bei Gruppe 1 gefundenen Werte. Bis Ende des Versuches hatten sie diese noch überstiegen und wiesen Werte von 1,58 und 1,49 vor.

Die Gruppe 7 verhielt sich im wesentlichen wie die Gruppen 5 und 6 mit dem niedrigsten Wert für den Albumin-Globulin-Quotienten von 1,05 vier Wochen p. i. Dem nun folgenden Anstieg während zweier Wochen folgte wieder eine geringe Abnahme des Albumin-Globulin-Quotienten auf 1,12 acht Wochen p. i., um etwa 12 Wochen p. i. mit Werten von 1,38 und 14 Wochen p. i. mit 1,50 die nicht infizierte Kontrolle zu erreichen.

Gruppe 8 zeigte entsprechend der Gruppe 2 sechs Wochen p. i. einen Quotiententiefpunkt von 1,03, dem bis 8 Wochen p. i. ein Anstieg auf 1,33 folgte. Innerhalb der anschließenden 6 Wochen fiel dann der Albumin-Globulin-Quotient auf 0,86 (s. Abb. 1).

4. Enzyme

a) Transaminasen

Bis etwa 2 Wochen nach der Fasciola hepatica-Infektion liefen die Enzymaktivitäten der GOT in den Gruppen 3 bis 8 parallel und schwankten zwischen 71,7 und 53,5 mU/ml in den ersten Wochen und 56,4 bis 46,6 mU/ml Serum 14 Tage nach der Infektion. In auf- und absteigenden Enzymaktivitäten mit Höhepunkten in der 6., 10. und 14. Woche p. i. (74,2; 97,5 und 101,3 mU/ml Serum) stieg dann die Aktivitätskurve der GOT bei Gruppe 3 zum Ende des Versuches an. Gruppe 4 zeigte einen Anstieg auf 93,5 mU/ml Serum 6 Wochen p. i., dem sich eine allmähliche Verringerung der

Aktivität 12 Wochen p. i. auf 53,8 mU/ml Serum anschloß. 14 Wochen p. i. lag ein GOT Mittelwert von 75,8 mU/ml Serum bei Gruppe 4 vor.

Die Gruppen 5 und 6 entsprachen 6 Wochen nach der Infektion in ihrem Verlauf der Gruppe 4 mit einem Gipfel von 103,5 und 106,5 mU/ml Serum. Dem plötzlichen Abfall auf 51,0 und 54,0 mU/ml 8 Wochen p. i. folgte dann ein über 6 Wochen andauernder Anstieg, der bei Versuchsende in Gruppe 5 mit 99,6 mU/ml fast den Höhepunkt der 6. Woche p. i. wieder erreichte. Gruppe 6 wies am Ende der Untersuchung 69,9 mU/ml Serum auf.

Auch Gruppe 7 zeigte einen entsprechenden Verlauf der Enzymaktivitäten im Serum während der ersten 10 Wochen nach der Infektion. Doch hier lag zwischen den Wochen 4 bis 8 nach der Infektion ein erhöhtes Aktivitätsniveau mit Werten von 69,6, 79,0 und 78,7 mU/ml Serum vor. Innerhalb von 14 Tagen erfolgte dann ein geringer Abfall auf 51,9 mU/ml. Wie bei den vorherigen Gruppen stieg auch bei Gruppe 7 am Ende des Versuches die Aktivität der Serum-GOT auf 67,1 mU/ml an.

Wie Gruppe 2, zeigte auch Gruppe 8 nach einem allmählichen Anstieg 10 Wochen p. i. einen Höhepunkt von 171,5 mU/ml Serum. Schon 14 - 28 Tage später konnten jedoch wieder Aktivitätswerte von 66,9 und 61,9 mU/ml Serum ermittelt werden.

Die Enzymaktivitäten der Serum-GPT lagen bei den Gruppen 3 bis 8 im Bereich derer von Gruppe 1 und 2 (s. Abb. 3 und 4).

b) GLDH

Bei der Bestimmung der GLDH-Aktivitäten im Serum der infizierten Schafe in den Gruppen 3 bis 8 konnten in den Gruppen 3 und 6 im Verlauf des Versuches zwei allerdings relativ niedrig liegende Höhepunkte festgestellt werden,

nachdem die Aktivitätskurven bis 14 Tage nach der Infektion parallel verliefen. Der erste Gipfel der Enzymaktivitätsverlaufskurve lag 4 Wochen p. i. in den Gruppen 3 und 4 bei Werten von 13,8 und 17,3 mU/ml Serum und als Plateau zwischen der 4. und 6. Woche p. i. in den Gruppen 5 und 6 bei Werten von 11,8 und 12,9 bzw. 12,0 und 11,9 mU/ml Serum. Der zweite Gipfel lag in den Gruppen 3, 4 und 5 bei 10 Wochen p. i. und wies Enzymaktivitäten von 19,9, 15,0 und 11,9 mU/ml Serum auf.

Gruppe 6 zeigte 12 Wochen p. i. einen Gipfel mit 11,7 mU/ml Serum. Beide Höhepunkte waren in den Gruppen 3 und 4 durch Serumenzymwerte von mehr als 10 mU/ml, in den Gruppen 5 und 6 von solchen um 8,0 bzw. 7,5 mU/ml Serum verbunden. 14 Wochen p. i. ergaben die Aktivitätsmessungen der Serum-GLDH Werte von 7,7, 9,5, 4,8 und 7,3 mU/ml für die Gruppen 3, 4, 5 und 6. Die Gruppe 7 wies nur einen über 2 Wochen sich erstreckenden Gipfel von 16,3 und 16,2 mU/ml auf. 10 Wochen nach der Infektion waren diese Werte wieder auf 9,2, 12 Wochen p. i. auf 7,6 und 14 Wochen p. i. auf 9,3 mU/ml abgesunken und liefen denen der nicht infizierten Kontrolle parallel.

In Gruppe 8 konnte ein über 6 Wochen andauerndes Plateau nachgewiesen werden, das schon 4 Wochen p. i. begann und bis etwa 10 Wochen p. i. anhielt. Zu Beginn dieser Ebene lag ein Wert von 11,7 mU/ml vor, der sich auf 15,3 mU/ml Serum am Ende geringgradig steigern konnte. Dem dann innerhalb von 2 Wochen zu verzeichnenden Abfall auf 7,3 mU/ml folgte ein weiterer Anstieg auf 11,5 mU/ml Serum 14 Wochen p. i. (s. Tabelle 22 - 27 und Abb. 5 + 6).

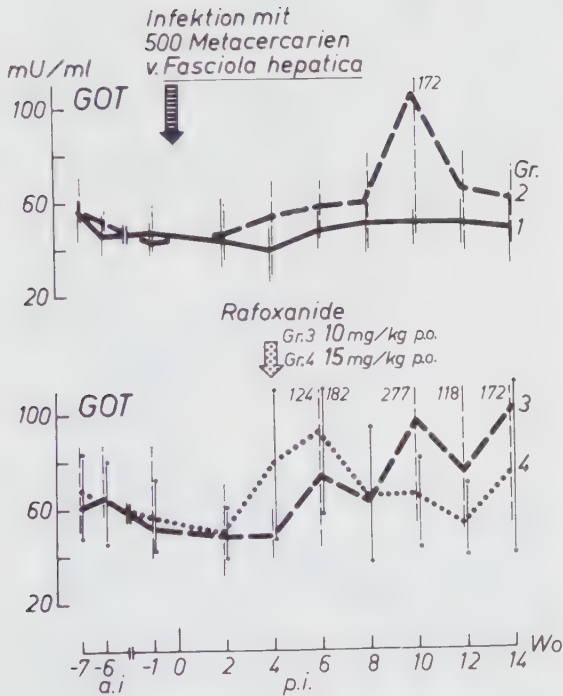


Abbildung 3: Darstellung der Enzymaktivität der GOT im Serum der nicht infizierten und infizierten, unbehandelten Schafe der Gruppen 1 und 2, sowie der infizierten und behandelten Schafe der Gruppen 3 und 4

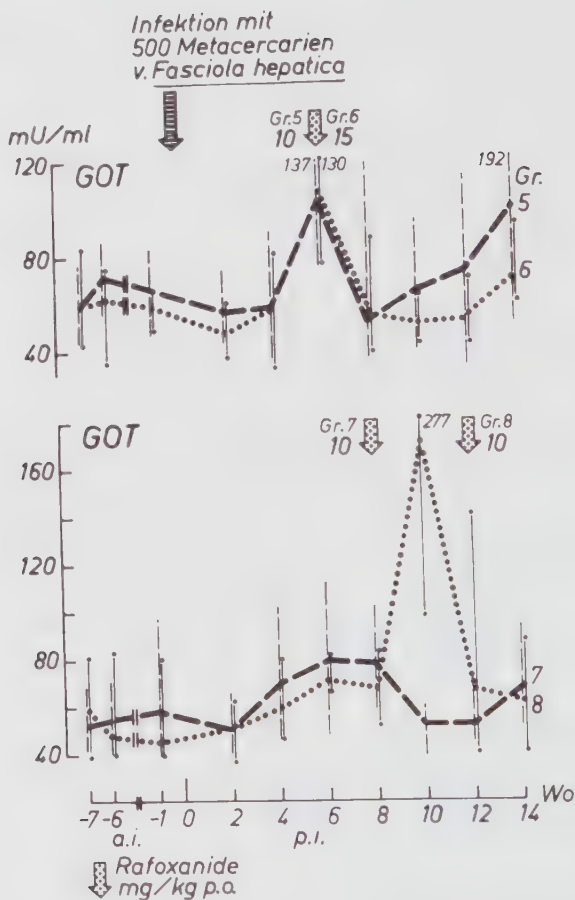


Abbildung 4: Darstellung der Enzymaktivität der GOT im Serum der infizierten und behandelten Schafe der Gruppen 5 - 8

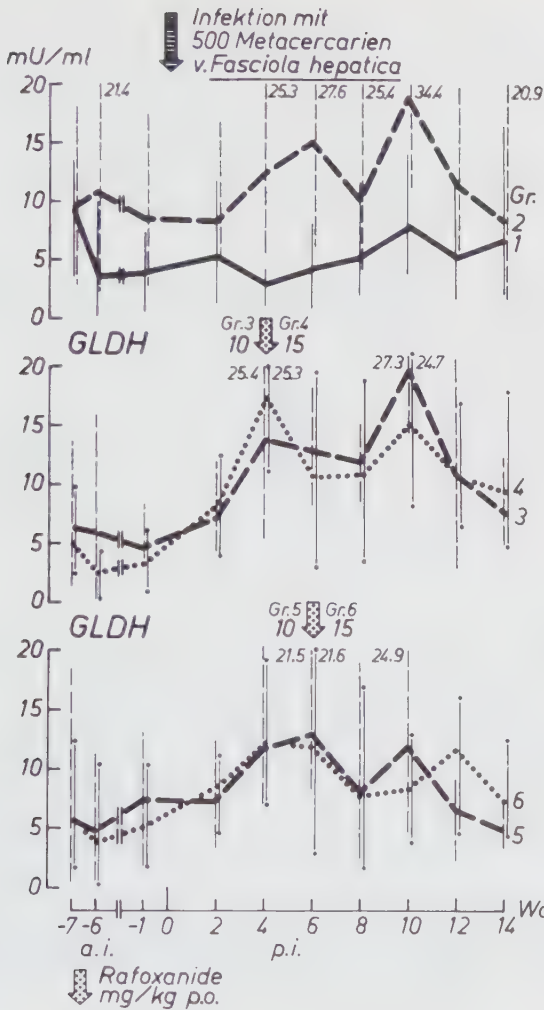


Abbildung 5: Darstellung der Enzymaktivität der GLDH im Serum der nicht infizierten und infizierten, unbehandelten Schafe der Gruppen 1 und 2, sowie der infizierten und behandelten Schafe der Gruppen 3 - 6

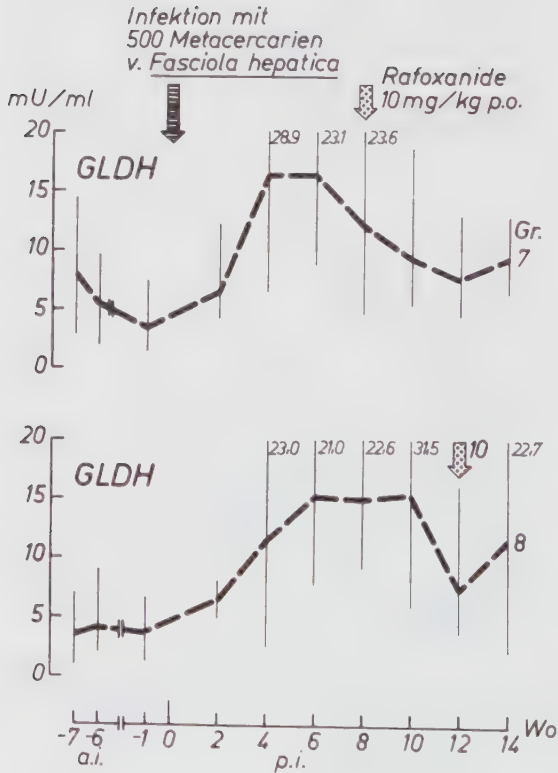


Abbildung 6: Darstellung der Enzymaktivität der GLDH im Serum der infizierten und behandelten Schafe der Gruppen 7 und 8

Tabelle 22: Übersicht über die Ergebnisse klinisch-chemischer Untersuchungen an mit 500 Metacercarien von Fasciola hepatica infizierten und 28 Tage p.i. mit 10 mg Rafoxanide pro kg Körpergewicht oral behandelten Schafen (Mittelwerte der infizierten und behandelten Gruppe 3)

Tage a.i. bzw. p.i.	Gew. in kg	Häma- tokr. in %	Hb g/ 100 ml Blut	GP.g/ 100 ml Serum	Alb.- Glob.- Quot.	Enzymaktivitäten in mU/ml Serum		
						GOT	GPT	GLDH
a.i.								
50	43,9	31,3	15,1	5,76	1,28	61,5	9,2	6,4
42	49,7	30,5	11,9	6,39	1,42	65,0	10,2	6,0
7	53,0	33,3	11,7	6,36	1,23	52,2	7,9	4,7
Infektion mit 500 Metacercarien								
p.i.								
14	56,0	30,8	11,0	6,33	1,25	48,9	6,0	7,3
28	57,8	30,4	11,2	6,66	1,03	49,0	8,8	13,8
Behandlung mit Rafoxanide								
42	58,8	30,6	11,0	6,60	1,05	74,2	3,7	12,8
56	59,7 ⁺ 56,3	33,5	11,8	6,71	1,34	62,4	7,3	12,0
70	57,8	32,9	11,8	6,97	1,26	97,5	7,6	19,9
84	57,2	33,5	11,7	7,36	1,08	74,6	6,7	10,7
98	59,2	30,4	10,7	7,23	1,14	101,3	7,2	7,7

⁺ Zeitpunkt der Schur

Tabelle 23: Übersicht über die Ergebnisse klinisch-chemischer Untersuchungen an mit 500 Metacercarien von *Fasciola hepatica* infizierten und 28 Tage p.i. mit 15 mg Rafoxanide pro kg Körpergewicht oral behandelten Schafen (Mittelwerte der infizierten und behandelten Gruppe 4)

Tage a.i. bzw. p.i.	Gew. in kg	Häma- tokr. in %	Hb g/ 100 ml Blut	GP.g/ 100 ml Serum	Alb.- Glob.- Quot.	Enzymaktivitäten in mU/ml Serum		
						GOT	GPT	GLDH
a.i.								
50	42,7	29,2	14,8	6,02	1,10	69,1	10,1	5,0
42	48,4	31,0	11,2	6,61	1,21	64,1	5,7	2,6
7	51,7	31,8	11,3	6,42	1,23	56,8	3,9	3,2
Infektion mit 500 Metacercarien								
p.i.								
14	54,7	32,3	11,6	6,71	1,22	50,1	5,4	8,1
28	56,0	30,4	11,2	7,01	0,93	78,5	10,1	17,3
Behandlung mit Rafoxanide								
42	57,6	28,8	10,3	6,75	1,03	93,5	3,9	10,4
56	57,3 ⁺ 53,1	33,8	12,1	6,95	1,24	65,5	8,2	10,8
70	55,0	32,8	11,5	6,97	1,24	66,2	8,5	15,0
84	53,7	31,9	11,1	7,19	1,04	53,8	6,0	10,7
98	55,8	31,1	11,1	7,21	1,04	75,8	8,1	9,5

⁺ Zeitpunkt der Schur

Tabelle 24: Übersicht über die Ergebnisse klinisch-chemischer Untersuchungen an mit 500 Metacercarien von Fasciola hepatica infizierten und 42 Tage p. i. mit 10 mg Rafoxanide pro kg Körpergewicht oral behandelten Schafen (Mittelwerte der infizierten und behandelten Gruppe 5)

Tage a.i. bzw. p.i.	Gew. in kg	Häma- tokr. in %	Hb.g/ 100 ml Blut	GP.g/ 100 ml Serum	Alb.- Glob.- Quot.	Enzymaktivitäten in mU/ml Serum		
						GOT	GPT	GLDH
a.i.								
50	43,6	31,6	14,8	6,24	1,14	58,6	13,0	5,8
42	47,1	31,0	10,5	6,62	1,19	71,7	7,1	4,7
7	55,7	32,3	11,4	6,21	1,32	66,0	6,3	7,3
Infektion mit 500 Metacercarien								
p.i.								
14	52,8	31,2	11,4	6,39	1,24	56,4	7,3	7,2
28	56,2	30,4	11,1	6,75	1,05	58,1	7,3	11,8
42	56,2	31,3	11,1	7,08	1,08	103,5	4,1	12,9
Behandlung mit Rafoxanide								
56	56,5 ⁺ 52,3	32,0	11,6	7,08	1,31	51,0	8,4	8,0
70	54,5	32,5	11,6	6,78	1,39	64,0	8,3	11,9
84	55,7	32,3	11,4	7,08	1,32	72,1	7,1	6,4
98	56,3	30,8	11,2	7,22	1,58	99,6	9,2	4,8

⁺ Zeitpunkt der Schur

Tabelle 25: Übersicht über die Ergebnisse klinisch-chemischer Untersuchungen an mit 500 Metacercarien von Fasciola hepatica infizierten und 42 Tage p.i. mit 15 mg Rafoxanide pro kg Körpergewicht oral behandelten Schafen (Mittelwerte der infizierten und behandelten Gruppe 6)

Tage a.i. bzw. p.i.	Gew. in kg	Häma- tokr. in %	Hb.g/ 100 ml Blut	GP.g/ 100 ml Serum	Alb.- Glob.- Quot.	Enzymaktivitäten in mU/ml Serum		
						GOT	GPT	GLDH
a.i.								
50	45,5	29,5	15,4	6,26	1,08	59,0	10,5	5,8
42	47,3	29,8	11,6	6,59	1,13	61,9	6,3	4,0
7	59,8	32,1	10,9	6,20	1,32	58,8	6,4	5,0
Infektion mit 500 Metacercarien								
p.i.								
14	56,3	29,9	10,8	6,43	1,22	46,6	8,9	8,4
28	58,8	30,7	11,1	6,83	1,00	56,6	8,3	12,0
42	59,4	34,3	11,9	7,37	0,84	106,5	5,7	11,9
Behandlung mit Rafoxanide								
56	58,7 ⁺ 54,8	32,0	11,5	7,10	1,24	54,0	7,0	7,5
70	57,5	33,4	12,0	6,85	1,28	50,9	7,6	8,3
84	58,2	33,0	11,7	7,12	1,39	51,4	7,7	11,7
98	60,6	31,3	11,6	7,17	1,49	69,9	8,2	7,3

⁺ Zeitpunkt der Schur

Tabelle 26: Übersicht über die Ergebnisse klinisch-chemischer Untersuchungen an mit 500 Metacercarien von *Fasciola hepatica* infizierten und 56 Tage p.i. mit 10 mg Rafoxanide pro kg Körpergewicht oral behandelten Schafen (Mittelwerte der infizierten und behandelten Gruppe 7)

Tage a.i. bzw. p.i.	Gew. in kg	Häma- tokr. in %	Hb.g/ 100 ml Blut	GP.g/ 100 ml Serum	Alb.- Glob.- Quot.-	Enzymaktivitäten in mU/ml Serum		
						GOT	GPT	GLDH
a.i.								
50	45,6	29,4	14,4	6,17	1,17	53,5	11,7	8,0
42	49,1	30,8	9,9	6,64	1,20	55,4	8,7	5,3
7	61,2	30,1	10,2	6,55	1,31	58,6	7,2	3,4
Infektion mit 500 Metacercarien								
p.i.								
14	58,3	31,1	10,7	6,57	1,37	50,7	8,6	6,6
28	60,5	30,8	11,0	6,93	1,05	69,6	8,1	16,3
42	63,1	32,5	11,3	7,20	1,16	79,0	5,0	16,2
56	62,3 + 58,0	33,9	12,1	7,28	1,12	78,7	7,2	11,8
Behandlung mit Rafoxanide								
70	59,2	33,5	11,8	7,04	1,18	51,9	6,2	9,2
84	61,2	33,3	11,9	7,22	1,38	51,9	5,1	7,6
98	61,7	32,7	11,9	7,14	1,50	67,1	6,2	9,3

⁺ Zeitpunkt der Schur

Tabelle 27: Übersicht über die Ergebnisse klinisch-chemischer Untersuchungen an mit 500 Metacercarien von *Fasciola hepatica* infizierten und 84 Tage p.i.mit 10 mg Rafoxanide pro kg Körpergewicht oral behandelten Schafen (Mittelwerte der infizierten und behandelten Gruppe 8)

Tage a.i. bzw. p.i.	Gew. in kg	Häma- tokr. in %	Hb.g/ 100 ml Blut	GP.g/ 100 ml Serum	Alb.- Glob.- Quot.-	Enzymaktivitäten in mU/ml Serum		
						GOT	GPT	GLDH
a.i.								
50	46,7	33,0	14,8	6,47	1,24	59,9	11,0	3,6
42	49,8	33,5	10,8	6,81	1,24	48,4	7,3	4,2
7	60,2	35,3	12,2	6,63	1,49	45,7	9,7	3,8
Infektion mit 500 Metacercarien								
p.i.								
14	55,8	34,3	12,0	6,63	1,35	50,7	7,7	6,5
28	59,0	33,6	11,9	6,91	1,05	59,3	7,5	11,7
42	60,7	34,1	12,1	7,26	1,03	71,4	4,5	15,2
56	60,7 ⁺ 56,3	34,9	12,2	7,44	1,33	68,4	8,1	14,9
70	57,3	34,0	11,7	7,80	0,94	171,5	7,2	15,3
84	58,0	31,1	10,6	8,03	0,82	66,9	5,5	7,3
Behandlung mit Rafoxanide								
98	59,0	30,7	11,1	7,94	0,86	61,9	8,8	11,5

⁺ Zeitpunkt der Schur

IV. DISKUSSION

In der vorliegenden Versuchsreihe zur Prüfung der chemotherapeutischen Wirksamkeit von Rafoxanide bei Fasciola hepatica-Infektionen und deren Auswirkung auf die pathophysiologischen Veränderungen des Blutes bei infizierten Schafen wurde in der mit 500 Metacercarien infizierten, unbehandelten Kontrollgruppe 2 ein durchschnittlicher Befall mit 76,4 (36 - 114) Leberegeln pro Schaf bei der Sektion 14 Wochen p. i. ermittelt. Dieser Infektionserfolg ist wesentlich schlechter als er nach den Untersuchungen von BORAY et al. (1967) und HUGHES (1963) zu erwarten gewesen wäre. HUGHES (1963) konnte nach Verabreichung von 200 Cysten pro Schaf einen Befall von durchschnittlich 78,2 Leberegeln bei 10 Tieren erzielen, was einer Ansitzrate von 39,1 % entsprach. BORAY et al. (1967) fanden von 200 Metacercarien von Fasciola hepatica bei der Sektion 12 Wochen p. i. 51,5 % als invadierte Leberegel wieder.

Berücksichtigt man jedoch, daß von den 500 zur Infektion dienenden Cysten 340 vom November / Dezember 1968 stammten, so ist anzunehmen, daß durch diese lange Lagerzeit von rund 4 Monaten bis zur Infektion die Infektiosität dieser Cysten gelitten hatte, obgleich bei der mikroskopischen Untersuchung morphologisch keine Beschädigungen beobachtet werden konnten. Würde man nur die zur Zeit der Infektion etwa 6 Wochen alten 160 Cysten berücksichtigen, so ergäbe sich eine Ansitzrate von 47,7 %, die um 8,6 % höher läge als die von HUGHES (1963) gefundene Befallsrate. Sie würde dann auch mit der von BORAY et al. (1967) ermittelten Ansitzrate von 51,5 % in etwa übereinstimmen.

Die in der infizierten, unbehandelten Gruppe 2 vorgefundenen Größenverhältnisse der Leberegel lagen am Ende des Versuches 14 Wochen p. i. zu 96,6 % zwischen 10,0 und 26,9 mm in der Länge. Dieses Ergebnis entspricht somit bei einem etwa gleich starken Befall den von DOW et al.

(1968) beschriebenen Befunden und liegt geringfügig über den von BORAY et al. (1967) ermittelten Werten.

Die in der Gruppe 1 und bei den infizierten Schafen der Gruppen 2 - 8 vor der Infektion gefundenen Hämatokritwerte sowie die Untersuchungsergebnisse über den Hämoglobingehalt im Blut gesunder Schafe entsprachen im wesentlichen den in der Literatur beschriebenen Werten. MEYER (1963) wies in seinen Untersuchungen auf die starken Schwankungen hin, die aufgrund anderer Umweltbedingungen bei Schafen auftreten und so herdenspezifische Hämatokritwerte entstehen lassen können. So lag der Hämatokrit-Mittelwert in der nicht infizierten Kontroll-Gruppe 1 bei 30,6 %, was in etwa den Ergebnissen von ULLREY et al. (1965) und HOLMAN (1944) entspricht. Auch GRUNSELL (1955) und MEYER (1963) fanden bei deutschen schwarzköpfigen Fleischschafen für Jährlinge entsprechende Werte. Der Hämoglobingehalt im Blut der Schafe dieser Gruppe 1 lag in dem von mehreren Autoren als physiologische Breite angegebenen Bereich (ULLREY et al., 1965; SCHALM, 1965; HACKETT, GAYLOR, BUSTAD, 1957; GRUNSELL, 1955; TODD, 1952; BECKER, SMITH, 1950; HOLMAN, 1944).

Entsprechendes kann für den Gehalt an Gesamteiweiß im Serum bei Schafen festgestellt werden (BOGUTH, 1953; KETZ, 1959). Der im Verlauf des Versuches beobachtete geringe Anstieg der Gesamtproteine dürfte nach PERK und LOBL (1960) auf das Altern der Tiere zurückzuführen sein.

Hinsichtlich der Angaben verschiedener Autoren über das Albumin-Globulin-Verhältnis im Serum von Schafen bestehen jedoch erhebliche Unterschiede. So ergaben sich im Albumin-Globulin-Quotienten für Jährlinge Schwankungen zwischen 0,72 (BOGUTH, 1953), 0,88 (PERK und LOBL, 1960), 1,02 (KENNETH und KUTTLER, 1959) und 1,23 (KETZ, 1959). Bedenkt man jedoch, daß bereits ein schwacher Parasitenbefall bei Schafen Veränderungen zu Ungunsten der Albumine und zu Gunsten der Globuline hervorrufen kann (Nematoden: DOBSON, 1965; WILSON, 1961; Trematoden: SINCLAIR, 1962; ROBERTS,

1968; FURMAGA und GUNDLACH, 1957, 1968), so dürften nur von KETZ (1959) wirklich physiologische Werte ermittelt worden sein. Da die in der vorliegenden Versuchsreihe verwendeten Tiere in zahlreichen Kotuntersuchungen parasitenfrei waren, kann man den zwischen 1,26 und 1,60 liegenden Quotienten als im physiologischen Bereich ansehen. Dabei ist allerdings auch hier zu berücksichtigen, daß die Schafe einige Wochen vor Versuchsbeginn einen starken Parasitenbefall zu verzeichnen hatten.

Die Enzymaktivitäten von GOT, GPT, GLDH, LDH und SDH im Serum der gesunden Schafe von Gruppe 1 entsprachen den in der Literatur publizierten Ergebnissen. Nur DREPPER (1967) hatte mit 5 - 20 mU/ml Serum für GLDH höhere Werte gefunden.

Die Gruppen 1 und 2 zeigten vor dem Infektionstermin ähnliche 14-tägige Gewichtszunahmen von etwa 2,3 kg, die während des weiteren Versuchsverlaufes in der nicht infizierten, unbehandelten Kontroll-Gruppe 1 1,7 kg ausmachten.

A) Zur Pathophysiologie des Blutes bei *Fasciola hepatica* infizierten Schafen

Die mit *Fasciola hepatica* infizierte, unbehandelte Kontrollgruppe 2 erreichte nur zu 64,8 % den durchschnittlichen Gewichtszuwachs der nicht infizierten Kontrollgruppe 1. Besonders deutlich zeigte sich dieser Verlust zwischen der 4. und 8. Woche nach der Infektion. Während dieser Zeit aktiver Wanderung der Leberegel im Leberparenchym konnte die infizierte Kontrollgruppe 2 nur einen Anteil von 11,1 % der Gewichtszunahme der Gruppe 1 erreichen. SINCLAIR (1962) stellte bei seinen Infektionsversuchen mit 600 Metacercarien von *Fasciola hepatica* fest, daß die infizierten Kontrollschafe nur zu 30 % den Gewichtsgewinn der nicht infizierten Gruppe bis zur 12. Woche p. i. er-

reichten, wobei sogar eine Abnahme von 5 % zwischen der 4. und 6. Woche p. i. zu verzeichnen war. Es konnte somit während der Zeit einer aktiven Wanderung der jungen Leberegel, etwa 4 - 8 Wochen p. i., im Vergleich zu SINCLAIR (1962) auch bei so niedrigen Ansitzraten von 36 - 114 Leberegeln in diesem Versuch eine starke Beeinträchtigung der Gewichtszunahme beobachtet werden. Diese starke Gewichtsreduzierung während der 4. - 8. Woche p. i. wurde aber im Gegensatz zu den Ergebnissen von SINCLAIR (1962) bis zur 12. Woche p. i. in hohem Maße wieder ausgeglichen.

Die in der infizierten, unbehandelten Kontrollgruppe 2 festgestellten pathologisch-anatomischen Befunde waren vom typischen Bild der Fasciolose geprägt. Die Gruppe 2 als infizierte Kontrolle lag vor der Infektion mit allen Untersuchungsergebnissen parallel zur Gruppe 1 im physiologischen Bereich. Bei einem Befall der Lebern mit Leberegeln, wie in diesem Versuch, sind nach SYMONS und BORAY (1968) keine klinischen Erscheinungen zu erwarten, was somit für die in dieser Versuchsreihe festgestellten Hämatokrit- und Hämoglobinergebnisse zutrifft. Der von SINCLAIR (1962), SYMONS und BORAY (1968) und ROBERTS (1968) beobachtete Abfall des Hämatokrit- und Hämoglobingehalts im Blut wird nur durch hohe Infektionsdosen von 600 - 10000 Metacercarien/Schaf hervorgerufen.

Der Gesamtprotein-Gehalt im Serum stieg bei den Tieren der infizierten Gruppe 2 um 0,59 g/100 ml Serum stärker an als in der nicht infizierten Gruppe 1. Ein solcher Anstieg wurde auch von SINCLAIR (1962) sowie von FURMAGA und GUNDLACH (1967, 1968) bei Fasciola hepatica-Infektionen beobachtet. Durch die Infektion traten in Gruppe 2 schon nach 14 Tagen Veränderungen im Albumin-Globulin-Verhältnis auf, während SINCLAIR (1962) eine derartige Reaktion erst etwa 6 Wochen nach der Infektion feststellen konnte. Bei hohen Infektionsdosen von 5000 Cysten/Schaf konnte auch ROBERTS (1962) innerhalb von zwei Wochen die ersten Veränderungen feststellen, die durch eine ausgeprägte Hyper-

globinämie bei einem gleichzeitigen Verlust an Albuminen gekennzeichnet waren. Die im Rahmen dieser Untersuchungen beobachtete Normalisierungstendenz zwischen der 4. und 8. Woche p. i. dürfte auf die von SINCLAIR (1969) beschriebene relative Ruhephase der Leberegel während ihrer Gewebewanderung zurückzuführen sein. Erst vor und in Zusammenhang mit dem Durchbruch in die Gallengänge, hier etwa zwischen der 8. und 10. Woche p. i., kommt es erneut zu einer regen Wanderungstätigkeit der jungen Leberegel, die neue Zellschäden und Störungen im Serum-Eiweißhaushalt zur Folge hatte.

Die in der vorliegenden Versuchsreihe durchgeführten Enzym-Untersuchungen sollten in Form einer Verlaufskontrolle Aufschluß über die bei einer Fasciola hepatica-Infektion der Schafe zu erwartenden Leberfunktionsstörungen geben und die Grundlage für eine diesbezügliche Beurteilung des Therapieerfolges einer chemotherapeutischen Behandlung am lebenden Tier liefern. Ähnliche Untersuchungen an infizierten Schafen wurden bisher nur von DREPPER (1967) an 4 schwach infizierten Tieren durchgeführt. Die in den Versuchen von PINKIEWICZ et al. (1968) ermittelten Werte lagen im oberen physiologischen Bereich.

Aufgrund der Untersuchungen von SINCLAIR (1969) scheinen sich die Wanderformen von Fasciola hepatica von zerstörten Zellen zu ernähren. SYMONS und BORAY (1967) stellten ausgeprägte Gewebsschäden und Hämorrhagien in der Leber fest. Diese zerstörten Zellen sind Ursache der Freisetzung von Enzymen, die sich aber aufgrund ihrer niedrigen Halbwertszeiten (SCHMIDT und SCHMIDT, 1966) nicht anhäufen. Von Interesse ist jedoch die in diesen Untersuchungen gefundene deutliche Vermehrung von GOT im Serum etwa 10 Wochen p. i., die von DREPPER (1967) in der 7. bis 8. Woche p. i. beschrieben wurde. Diese gesteigerte Enzymfreisetzung hat nach SINCLAIR (1969) ihre Ursache darin, daß kurz vor dem Durchbruch in die Gallengänge für die noch im Lebergewebe befindlichen Leberegel eine Zeit ver-

stärkter Wanderung einsetzt. Sie ist durch starke Zellschädigungen (Leberrupturen bei stärkerer Invasion) und eine erhöhte Sterblichkeitsquote gekennzeichnet. Befinden sich jedoch alle Parasiten an ihrem endgültigen Aufenthaltsort in den Gallengängen, so kann der Zellschaden durch Reparation behoben werden, was sich wiederum in einem raschen Abfall der GOT-Aktivität kenntlich macht. Dieser Zeitpunkt erhöhter Aktivität lag durch den geringen Leberegelbefall und eine eventuelle frühere Ansiedlung in den Gallengängen bedingt, bei DREPPER (1967) um ungefähr zwei Wochen früher als in den vorliegenden Versuchen.

Die von allen Autoren beobachtete Trägheit der GPT-Aktivität findet eine Begründung in den von CORNELIUS et al. (1959) sowie von MASTERS und HORGAN (1962) durchgeführten Untersuchungen, die darauf hinweisen, daß die Wiederkäuerleber dieses Enzyms nur in geringen Mengen enthält. Diese Tatsache geht nicht mit den bei Menschen von SCHMIDT und SCHMIDT (1960, 1962, 1963) beobachteten Verhältnissen konform, wo die GPT bei Leberzellschäden sehr früh und stark reagiert.

Der Verlauf der GLDH-Aktivitätskurve demonstriert deutlich die von SINCLAIR (1969) beschriebene hohe Wanderungsaktivität der jungen Leberegel bis zur 6. Woche p. i. Mit der danach folgenden Ruhephase ist auch die GLDH-Aktivität in geringem Maße herabgesetzt, um mit der zweiten besonders starken Wanderphase vor dem Durchbruch in die Gallengänge wieder anzusteigen (SINCLAIR, 1969). Die nun rasch einsetzende Normalisierung der Enzymaktivität zum Schluß des Versuches weist auf die inzwischen erfolgte RepARATION der Leberschäden hin.

LDH als ein in hohem Maße in der Leber vorkommendes Enzym und α -HBDH, ein LDH-Isoenzym, zeigten mit ihren Gipfelpunkten 10 Wochen p. i. ebenfalls den Zeitpunkt größter Zerstörung und somit stärkster Wanderung kurz vor dem Durchbruch in die Gallengänge an.

In besonders ausgeprägter Weise spiegelt das leberspezifische Enzym SDH das von SINCLAIR (1969) beschriebene Verhalten in der Wanderphase von Fasciola hepatica wider. Dem Maximum 4 Wochen p. i., also während der Zeit des Eindringens in die Leber und der ersten Wanderung der jungen Parasiten, folgte eine Ruhephase mit einem deutlichen Abfall der Enzymaktivität. Es ist denkbar, daß der zweite weniger bedeutende Enzymaktivitätsanstieg, der bis etwa 12 Wochen p. i. andauert und somit um 2 Wochen gegenüber dem bei den anderen Enzymen gefundenen Gipfel verschoben ist, durch einen kleinen Teil noch wandernder Leberegel verursacht wird. Diese Nachzügler dringen erst später in die Gallengänge ein und setzen dadurch Schäden, die zwar noch von dem in der Leber in hohem Maße vorkommenden Enzym SDH, aber nicht mehr von der Transaminase angezeigt werden.

B) Über die chemotherapeutische Wirksamkeit von Rafoxanide

Auf der Basis der von BORAY (1969) ermittelten Dosis tolerata maxima von 60 mg/kg Körpergewicht per os bei infizierten Schafen ergibt sich unter Berücksichtigung einer curativen Dosis von Rafoxanide gegen adulte Leberegel 12 Wochen p. i. in der Größenordnung von 5 mg/kg p. o. ein "Safety-Index" von 12. Dieser ist wenig mehr als ein Viertel größer als der von BORAY (1969) festgelegte "Safety-Index" ebenfalls 12 Wochen nach der Infektion. Die von BORAY (1969) ermittelte Dosis tolerata maxima entspricht den von MROZIK et al. (1969) bei mit 1000 Cysten von Fasciola hepatica infizierten Schafen 8 Wochen p. i. gefundenen Ergebnissen.

In den vorliegenden Untersuchungen konnte im Vergleich zu den Befunden von BORAY (1969) mit deutlich niedrigeren Dosierungen von Rafoxanide die gleiche Wirksamkeit bei den Behandlungsversuchen 8, 6 und 4 Wochen p. i. erzielt werden.

Aus einer mehr als 90-%igen Wirksamkeit des Präparates nach Verabreichung einer Dosis von 10 mg/kg p. o. gegen 6 und 8 Wochen alte Leberegel läßt sich ein "Safety-Index" von 6 errechnen. Dieser betrug bei Behandlungen mit 15 mg/kg p. o. und ebenfalls mehr als 90%iger Wirksamkeit gegen 4 Wochen alte Leberegel 4. Vergleicht man diese Werte für den "Safety-Index" mit den von BORAY ermittelten Ergebnissen, so sind sie bei gleicher Wirksamkeit gegen die verschiedenen Altersstufen von Fasciola hepatica doppelt so groß.

In Zusammenhang mit der Verabreichung von Rafoxanide in den hier angewandten verschieden hohen Dosierungen konnten weder in den Versuchen an Schafen noch bei den Experimenten an Ratten und Kaninchen Anzeichen einer Unverträglichkeit festgestellt werden. Desgleichen waren keine Veränderungen des Enzymaktivitätsspiegels im Serum 3, 6 und 9 Tage nach einer Behandlung mit 15 mg/kg Körpergewicht per os in einem hierzu durchgeführten orientierenden Versuch festzustellen. Eine Aussage über die Verträglichkeit des Präparates und die zu erwartenden Nebenerscheinungen bei hohen Dosierungen ist aufgrund der vorliegenden Studien nicht möglich. Desgleichen konnten keine Untersuchungen über die Ausscheidung der Verbindung aus dem Tierkörper und über einen eventuellen kumulativen Effekt bei wiederholter Behandlung gemacht werden.

Die hohe fasciolicide Wirksamkeit von Rafoxanide tritt auch bei einem Vergleich mit den "Safety-Indices" anderer bereits im Handel befindlicher Leberegelmittel deutlich hervor (Tabelle 28). Aufgrund der für die Praxis empfohlenen Dosierungen konnten für die einzelnen Präparate "Safety-Indices" ermittelt werden, die bei der chemotherapeutischen Behandlung geschlechtsreifer Leberegel zwischen 1,8 als niedrigstem Wert bei Hilomid und 5,8 als höchstem Wert bei Oxyclozanide liegen. Nimmt man für Rafoxanide 5 - 6 mg/kg p. o. als curative Dosierung bei einem Befall mit adulten Parasiten an, so ergibt sich

ein "Safety-Index" von 10 - 12, der die Indices von Clioanide, Oxyclozanide und Nitrioxynil um etwa das Doppelte, den von Menichlopholan und Hetol um etwa das 3 - 4 fache und von Hexachlorophen und Hilomid um etwa das 5 fache übertrifft. Unter Berücksichtigung einer Bekämpfung jugendlicher Stadien von Fasciola hepatica (6 - 8 Wochen p. i.) erweist sich der "Safety-Index" von Rafoxanide dem von Menichlopholan und Clioanide um etwa das 2,5 fache überlegen. Alle übrigen Präparate sind wohl aufgrund der niedrigen "Safety-Indices" von den Herstellern bisher nicht zur Behandlung jugendlicher Stadien des großen Leberegels speziell empfohlen worden. Rafoxanide dürfte darüber hinaus in seiner Wirksamkeit gegen 4 Wochen alte Fasciola hepatica-Infektionen bei einem "Safety-Index" von 4 noch eine für die Praxis ausreichende chemotherapeutische Breite aufweisen, die etwa der von 1,4-Bis-trichlormethylbenzol, Clioanide, Oxyclozanide und Nitrioxynil bei einer Behandlung adulter Leberegel entspricht.

Sollte sich in Feldversuchen an einem größeren Tiermaterial zeigen, daß die von BORAY (1969) und MROZIK (1969) im Experiment an infizierten Schafen ermittelte Dosis tolerata maxima von ca. 60 mg/kg per os noch zu hoch liegt, so würde auch eine bei etwa 40 mg/kg p. o. liegende Dosis tolerata maxima noch als ausreichend betrachtet werden können, da in diesem Falle die "Safety-Indices" bei Verabreichung curativer Dosen von 5 und 10 mg/kg p. o. immer noch 8 und 4 betragen würden.

Tabelle 28: "Safety-Indices" der wichtigsten Leberegelmittel unter Berücksichtigung der in der Praxis empfohlenen Dosierungen bei Schafen (nach BORAY, 1969, modifiziert und ergänzt)

Präparat	Dos. ¹⁾ tol. max. mg/kg	Appli- ka- tions- weise	In der Praxis empf. Dosis mg/kg Leberegel		"Safety-Indices" bei Schafen Behandlung Leberegel	
			adult	6-8 Wo.	adult	6-8 Wo.
1,4-Bis- trichlor- methyl- benzol	600	p. o.	150	-	4	-
Hexachlo- rophen	30	p. o.	12	-	2,5	-
Menichlo- pholan	12	p. o.	4	5	3	2,4
Hilomid	60	p. o.	26-32	-	1,8-2,3	-
Clixoxide	100	p. o.	20	40	5	2,5
Oxyclo- zanide	60	p. o.	10,3	-	5,8	-
Nitrio- xynil	40	sc.	10	-	4	-
Rafoxani- de	60	p. o.	5-6	10 ²⁾	10-12	6

- 1) Die Dosis tolerata maxima wurde von BORAY (1969) an Fasciola hepatica infizierten Schafen ermittelt
- 2) Aufgrund der eigenen Untersuchungen empfohlene Dosierungen

C) Auswirkungen der Chemotherapie auf die Pathophysiologie
des Blutes bei der Fasciolose des Schafes

Die Beobachtung der Gewichtsentwicklung in den infizierten und behandelten Gruppen ergab in den Gruppen 3 und 4 einen nur geringen Gewichtszuwachs, während in den Gruppen 5, 6, 7 und 8 nach weitgehender Eliminierung der Leberegel eine den nicht infizierten Kontrollen vergleichbare Gewichtszunahme erreicht werden konnte.

Bei der Sektion der infizierten Schafe und der Feststellung der Größe der isolierten Leberegel konnte bei den behandelten Tieren ein im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle deutlich höherer Anteil kleinerer Exemplare von Fasciola hepatica ermittelt werden. Fielen bei Gruppe 2 über 50 % der Leberegel in die Größengruppe 15 - 19,9 mm, so wiesen mehr als die Hälfte der Leberegel der Gruppe 3 nur Größen von 10,0 - 14,9 mm auf. Der Anteil der Leberegel mit Größen von 5,0 - 9,9 hatte sich dabei von 3,4 % auf 13,5 % erhöht. Diese Tendenz zeigte sich in den folgenden Gruppen 4 - 7 in verstärktem Maße. So stieg in diesen der Anteil der Größen zwischen 5,0 und 9,9 auf 34,4, 31,3, 25,0 und 40,0 %, wobei Leberegel der Größengruppe 15,0 und 19,9 mm überhaupt nicht mehr nachweisbar waren. Da somit ein prozentual höherer Anteil kleinerer Leberegel unter den überlebenden Parasiten der behandelten Gruppen im Vergleich zur unbehandelten Gruppe nachgewiesen werden konnte, liegt die Vermutung nahe, daß insbesondere in den Gruppen 4 bis 7 vorwiegend die größeren und weiterentwickelten Leberegel abgetötet wurden und die Parasiten von geringer Größe der Wirkung des Präparates entgangen sind. BORAY (1963) deutete entsprechende Befunde auch mit einer Hemmung der physiologischen Entwicklung der jungen Leberegel, die aufgrund dieses Reifestadiums für eine chemotherapeutische Beeinflussung noch nicht bereit waren. Auch ROSS (1965) erwähnte entsprechende Vermutungen. Es liegt jedoch näher anzunehmen, wie es BORAY (1965) bereits in Untersuchungen

mit Hilomid vermutete, daß eine Hemmung des Wachstums der Parasiten durch die chemotherapeutische Behandlung der Fasciolose die Ursache dieser Verschiebung ist.

Hinsichtlich der Auswirkungen einer Behandlung mit Rafoxanide auf die Pathophysiologie des Blutes zeigte sich bei allen infizierten und behandelten Gruppen eine günstige Beeinflussung des Krankheitsgeschehens der Fasciolose. Während bei dem sehr frühen und in Gruppe 3 nur teilweise erfolgreichen Einsatz des Chemotherapeutikums 4 Wochen p. i. das Albumin-Globulin-Verhältnis nur eine Tendenz zur Normalisierung zeigte, konnten in den Gruppen 5, 6 und 7 durchschnittlich etwa 4 Wochen nach der Behandlung wieder physiologische Albumin-Globulin-Quotienten im Serum festgestellt werden. In Gruppe 8 konnte sich diesbezüglich die erfolgreiche Behandlung noch nicht auswirken, da hier der Versuch bereits 14 Tage nach der Behandlung beendet wurde.

In Gruppe 3 mit einer Reduktion des Leberegelbefalls von 66 % konnte keine Beeinflussung der GOT und GLDH-Enzymfreisetzung durch die Behandlung gefunden werden. In Gruppe 4 zeigte sich bei beiden Enzymen jedoch schon die Tendenz zu einer geringeren Aktivität. Der typische GOT-Gipfel 10 Wochen p. i. war hier nicht mehr vorhanden. Im Falle der GLDH war der zweite Höhepunkt 10 Wochen p. i. niedriger als der erste etwa 4 Wochen p. i. Im Falle der Gruppen 2 und 3 konnte eine solche Reaktion nicht festgestellt werden. Die Behandlung mit Rafoxanide 6 Wochen p. i. hatte einen deutlichen Abfall der GOT- und GLDH-Enzymaktivitäten zur Folge. Die GOT-Aktivität erreichte 2 Wochen nach der Behandlung wieder den Bereich der nicht infizierten Kontrollgruppe 1, stieg aber dann am Ende des Versuches wieder deutlich an, ohne daß dieser Anstieg begründet werden könnte. Die GLDH-Aktivität zeigte eindeutig eine Tendenz zur Normallage der Gruppe 1. Eine solche Tendenz zur Rückkehr in den physiologischen Bereich war nach der Behandlung 8 Wochen

p. i. bei beiden Enzymen deutlicher vorhanden. Die Behandlung 12 Wochen p. i. lag bereits im Bereich des natürlichen Abfalls der Enzymaktivitäten, wahrscheinlich verursacht durch die einsetzende Reparation der Leberparenchymschäden, nachdem sich inzwischen der größte Anteil der Parasiten in den Gallengängen angesiedelt hatte. Auch eine Behandlung der Schafe 6 Wochen p. i. zeigte eine günstige Beeinflussung der Fasciolose, die in gleichem Maße bei einer Behandlung schon 4 Wochen p. i. mit einer über 90%igen Reduktion der invadierten Leberegel dagegen nicht zu beobachten war. Eine mögliche Ursache dieser Unterschiede könnte das Absterben der jungen Leberegel im Leberparenchem sein, die wiederum zu entzündlichen Reaktionen, zu Veränderungen im Albumin-Globulin-Verhältnis und zu Enzymaktivitäts-Anstiegen Anlaß gaben.

Die Ergebnisse experimenteller Untersuchungen mit halogenierten Salicylsäureaniliden an Ratten ließen BORAY (1967) und TEWARI (1968) zu dem Schluß kommen, daß diese Substanzgruppe bei der infizierten Ratte schlecht oder gar nicht wirksam ist. Aufgrund der eigenen Untersuchungen mit Rafoxanide ist aber erwiesen, daß dies für dieses Präparat nicht zutrifft. Mit einer im Vergleich zum Schaf etwa 6-fach höheren Dosierung gegen adulte Leberegel konnte auch bei der Ratte eine über 90%ige Wirkung erzielt werden. Desgleichen hat sich das infizierte Kaninchen zur Prüfung der vorliegenden Substanz gegen adulte Leberegel von Fasciola hepatica als nützlich erwiesen. Auffallend war hier auch die im Kaninchenversuch ermittelte sehr niedrige curative Dosis von 5 mg/kg Körpergewicht p. o., die der bei Schafen gegen adulte Leberegel wirksamen Dosis entspricht.

Die in der vorliegenden Versuchsreihe erzielten und im Detail dargestellten Ergebnisse haben gezeigt, daß mit Rafoxanide, ein Präparat aus der Reihe halogenierter Salicylsäureanilide, ein neues potentes Leberegelmittel

mit hoher chemotherapeutischer Wirksamkeit und günstiger chemotherapeutischer Breite entwickelt werden konnte, dem auch eine gute Wirkung gegen die wandernden Jugendstadien des großen Leberegels zukommt. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß alle Aussagen, insbesondere die hinsichtlich der pathophysiologischen Veränderungen im Blut, auf einer nur mittleren Leberegelinfektion basieren und die Ergebnisse vor allem dann, wenn sie nur als Tendenz gedeutet wurden, unter diesem Gesichtspunkt beurteilt werden müssen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

In Zusammenhang mit experimentellen Untersuchungen auf dem Gebiet der Chemotherapie der Fasciolose wurde RAFOXANIDE (MK 990), ein neues Leberegelmittel aus der Klasse der halogenierten Salicylsäureanilide, auf seine Wirksamkeit gegen jugendliche und geschlechtsreife Stadien des großen Leberegels, Fasciola hepatica, geprüft. Weiterhin wurde den pathophysiologischen Veränderungen im Blut bei der Fasciolose der Schafe besondere Aufmerksamkeit geschenkt und ihre Beeinflußbarkeit durch chemotherapeutische Maßnahmen untersucht. Die Versuche zeigten, daß RAFOXANIDE in Dosierungen von 15, 10 und 5 mg/kg Körpergewicht bei 4, 6 und 12 Wochen alten Fasciola-Infektionen über 90 % wirksam ist.

Die pathophysiologischen Veränderungen zeigten sich insbesondere in einer Störung des Proteinmetabolismus mit einer etwa 4 Wochen p. i. beginnenden Hypoalbumin- und Hyperglobulinämie. Weiterhin konnten 4 - 6 Wochen p. i. beginnende unterschiedliche Aktivitätssteigerungen bei den Enzymen GOT, GLDH, LDH, α -HBDH und SDH ermittelt werden.

Deutliche Tendenzen zur Rückkehr des Blutstatus in den physiologischen Bereich wurden nach Behandlung der infizierten Schafe 6 Wochen p. i. und später nachgewiesen.

Die bereits 4 Wochen p. i. durchgeführte chemotherapeutische Behandlung der Fasciolose trug nicht in gleichem Maße zu einer Normalisierung des Blutes bei, obwohl auch hier über 90 % der invadierten Leberegel abgetötet wurden.

V. SUMMARY

In chemotherapeutic investigations the new fasciolicidal drug, RAFOXANIDE (MK 990), a halogenated salicyl-anilid compound, was tested against immature and adult stages of Fasciola hepatica in the sheep. In addition to this the pathophysiological changes in the blood of infected sheep and the influence of chemotherapeutic treatment on these changes were investigated.

It could be demonstrated, that RAFOXANIDE, when administered 4, 6 and 12 weeks after infection, was highly effective in doses of 15, 10 and 5 mg. per kg. body weight.

Pathophysiological studies revealed distinct changes in the serum-protein constellation and an increase in the enzyme-activities in the case of GOT, GLDH, LDH, α -HBDH, and SDH as from 4 weeks post infection onwards.

The pathophysiological changes in the sera of treated animals returned to normal values 6 weeks after infection.

The treatment with RAFOXANIDE 4 weeks after infection showed only a little influence on the protein pattern and the enzyme-activity.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- BECKER, D.E., SMITH, S.E.: A chemical and morphology study of normal sheep blood.
Cornell. Vet. 40, 350 (1950)
- BEHRENS, H.: Behandlung des Leberegelbefalls der Schafe mit HETOL.
Dtsch.tierärztl.Wschr. 67, 467 (1960)
- BEHRENS, H.: Praktische Erfahrungen mit der kombinierten Leberegel- und Magendarmnematodenbehandlung bei Schafen mit HETOL und PHENOTHIAZIN S "Höchst".
Blaue Hefte f. d. Tierarzt 1, 6 (1962)
- BETKE, K., SAVELSBERG, W.: Stufenphotometrische Hämoglobinbestimmung mittels Cyanhämglobin.
Biochem. Zschr. 320, 431 (1950)
- BOGUTH, W.: Papierelektrophoretische Serumuntersuchungen bei Haussäugetieren.
Zentralbl. Vet.Med. 1, 168 (1953)
- BORAY, J.C.: Standardization of techniques for pathological and anthelmintic studies with Fasciola spp.
Proc. first internat. Conf. World Ass. for the Advancement of Vet.Parasitology, Hannover 1963, 34 (1963)
- BORAY, J.C., HAPPICH, F.A., ANDREWS, J.C.: Tests on the anthelmintic efficiency of HILOMID against immature and mature Fasciola hepatica in sheep.
Vet.Rec. 77, 175 (1965)
- BORAY, J.C., HAPPICH, F.A., ANDREWS, J.C.: Studies on the suitability of the albino rat for testing anthelmintic activity against Fasciola hepatica in the rat.
Ann. trop. Med. Parasit. 61, 104 (1967)

- BORAY, J.C., HAPPICH, F.A., ANDREWS, J.C.: Comparative chemotherapeutical tests in sheep, infected with immature and mature Fasciola hepatica.
Vet.Rec. 80, 218 (1967)
- BORAY, J.C.: Studies on experimental infections with Fasciola hepatica, with particular reference to acute Fascioliasis in sheep.
Ann. trop. Med. Parasit. 61, 439 (1967)
- BORAY, J.C., HAPPICH, F.A.: Standardised chemotherapeutical tests for immature and mature Fasciola hepatica-Infections in sheep.
Aust. vet. J. 44, 72 (1968)
- BORAY, J.C.: Experimental Fascioliasis in Australia
In: Advances in Parasitologie Vol 7, 95 (1969)
Academic Press, London - New York
- BOYD, J.W.: The comparative activity of some enzymes in sheep, cattle and rats - Normal serum and tissue levels and changes during experimental liver necrosis.
Res. vet. Sci. 3, 256 (1962)
- BROWN, J.M.: Studies on selected aspects of the biochemistry of geeldikkop and enzootic icterus.
S. Afr. vet. med. Ass. 35, 507 (1964)
- CAMPBELL, W.C., OSTLIND, D.A., YAKSTIS, J.J.: The efficacy of 3,5-Diiodo-3'chloro-4'-(p-chlorophenoxy)-salicylanilide against immature Fasciola hepatica in sheep.
Res. vet. Sci. 2, 99 (1970)
- COLEGRAVE, A.J.: M & B 10,755 - a new fasciolicide: field trials in sheep and cattle.
Proc. 18 Welttierärztekongreß, Paris Vol. 1, 118 (1967)

- COLEGRAVE, A.J.: Fascioliasis: field trials of Nitrioxynil in cattle, field trials of Nitrioxynil in sheep. Vet.Rec. 82, 343 (1968)
- CORNELIUS, C.E., BISHOP, J., SWITZER, J., RHODE, E.A.: Serum and tissue transaminase activities in domestic animals. Cornell vet. 49, 116 (1959)
- DAVIS, M., LUCAS, J.M.S., ROSENBAUM, J., WRIGHT, D.E.: 4-Cyano-2-iodo-6-nitrophenol: a new fasciolicide. Nature 211, 882 (1967)
- DAWES, B., HUGHES, D.L.: Fascioliasis: the invasive stages of Fasciola hepatica in mammalian hosts. In: Advances in Parasitology Vol. 2, 97 (1964) Academic Press, London - New York
- DIXON, K.E.: The relative suitability of sheep and cattle as hosts for the liver-fluke Fasciola hepatica L. J. Helminth. 38, 203 (1964)
- DIXON, K.E.: The physiology of excystment of the metacercaria of Fasciola hepatica L. Parasitology 56, 431 (1966)
- DOBSON, C.: Serum protein changes associated with Oesophagostomum columbianum-Infections in sheep. Nature 18, 207 (1965)
- DONE, J., MORTIMER, P.H., TAYLOR, A.: Some observations on field cases of facial eczema: liver pathology and determinations of serum bilirubin, cholesterol transaminase and alkaline phosphatase. Res. vet. Sci. 1, 76 (1960)
- DOW, C., ROSS, P.H., TODD, J.R.: The histopathology of Fasciola hepatica-infections in sheep. Parasitology 58, 129 (1968)

- DREPPER, K., KEDENBURG, C.P.: Activity of some liver - specific enzymes in the serum of sheep experimentally infected with Fasciola hepatica.
Tierärztl. Umschau 22, 396 (1967)
- EIKMEIER, H., KAMEL, S.H.: Experimentelle Untersuchungen über die Verträglichkeit von HETOL, einem neuen Leberegelmittel bei Schafen.
Tierärztl. Umschau 16, 79 (1960)
- ENIGK, K., DÜWEL, D.: Die Behandlung der Fasciolose beim Rind mit HETOL.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 67, 535 (1960)
- ERASMUS, J.A., DE VRY, J.: Levels of Plasma Glutamic Oxalacetic Transaminase in sheep from the Cape Province.
J. South Afr. vet. med. Ass. 39, 19 (1968)
- ERHARDT, A., LÄMMLER, G., HINZ, E., THEMANN, H.: Experimentelle Invasionen bzw. Erzeugung von Krankheiten durch Metazoen bei Laboratoriumstieren.
In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie
Band XVI, Teil I, (1964), Springer-Verlag, Berlin
- FEDERMANN, M.: Untersuchungen zur Wirkung von BLEVON M und R gegen Fasciola hepatica bei Schaf und Rind.
Wiadomosci Parazytologiczne 14, 611 (1968)
- FROYD, G.: Field trials with Oxyclozanide, a new liver-fluke remedy for sheep and cattle.
Brith. vet. J. 124, 116 (1968)
- FURMAGA, S., GUNDLACH, J.L.: Parasitological and haematological investigation in the course of experimental fascioliasis in sheep.
Excerpta Veterinaria, Lublin 5, 47 (1966)
- FURMAGA, S., GUNDLACH, J.L.: Studies on the behaviour of serum proteins in the course of experimental fascioliasis in sheep.
Excerpta Veterinaria, Lublin 6, 58 (1967)

FURMAGA, S., GUNDLACH, J.L.: Haematological and electrophoretic studies in the course of experimental fascioliasis.

Wiadomosci Parazytologiczne 14, 561 (1968)

GEINITZ, W.: Über Serumeiweiße von Tieren, die häufig als Versuchstiere oder zur Gewinnung von Heilserum dienen.

Klin. Wschr. 32, 1108 (1954)

GIBSON, T.E.: Recent advances in the anthelmintic treatment of the domestic animals.

In: Advances in Parasitology Vol. 2, 221 (1964)
Academic Press, London - New York

GIBSON, T.E.: Advances in veterinary anthelmintic medication.

In: Advances in Parasitology Vol. 7, 349 (1969)
Academic Press, London - New York

GRUNSELL, C.S.: Seasonal variation in the blood and bone marrow of scottish high sheep.

J. comp. Path. 65, 93 (1955)

GUILHON, J., VASSALOS, M.: Activity of Iodo-3,hydroxy-4, nitro-5 benzonitrile, given by parenteral injection, against Fasciola hepatica.

Bull. Acad. vét. Fr. 40, 461 (1967)

HACKETT, P.L., GAYLOR, D.W., BUSTAD, L.K.: Blood constituents in Suffolk Ewes and Lambs.

Amer. J. vet. Res. 18, 338 (1957)

HANKIEWICZ, J., HANKIEWICZ, K.: Die Aktivität der Serum-Transaminasen bei der Fasciolose der geschlachteten Rinder.

Wien. tierärztl. Mschr. 51, 145 (1964)

HAPPICH, F.A., BORAY, J.C., HEALY, B.P.: The comparative anthelmintic efficiency of Hexachlorophene, Bayer 9015 and subcutaneous Carbon tetrachloride in an outbreak of subacute fascioliasis in sheep.

Aust. vet. J. 43, 261 (1967)

- HEBDEN, S.P.: The anthelmintic efficiency of Clioacetoxanide against liver-fluke in sheep and cattle.
Proc. 18. Welttierärztekongreß, Paris Vol. 1, 122 (1967)
- HILDEBRAND, J.: Dibromosalicylanilide-tribromosalicylanilide (HILOMID), Effect against immature and mature stages of Fasciola gigantica in artificially infected sheep.
Vet. Rec. 82, 699 (1968)
- HIRSCHLER, K.: Prüfung von Wurmmittel und pharmakodynamisch wirkenden Substanzen auf Leberegelwirksamkeit bei kleinen Wiederkäuern.
Wiener tierärztl. Mschr. 44, 692 (1957)
- HÖRCHNER, F.: Klinische und immunologische Untersuchungen an experimentell mit Fasciola hepatica infizierten Rindern.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 82, 204 (1969)
- HOLMAN, H.H.: Studies on the hematology of sheep I: the blood picture of healthy sheep.
J. comp. Path. 54, 26 (1944)
- HOLMES, P.H., DARGIL, J.D., MAC LEAN, J.M., MULLIGAN, W.:
The anaemia in fascioliasis: studies with ⁵¹Cr-labelled red cells.
J. Comp. Path. 78, 415 (1968)
- HUGHES, D.L.: Some studies on the host-parasite relations of Fasciola hepatica.
Thesis, University of London (1963)
- HUGHES, D.L.: Thesis, University of London (1959)
aus: DAWES, B., HUGHES, D.L.: Fascioliasis, the invasive stages of Fasciola hepatica in mammalian hosts.
in: Advances in Parasitology, Vol. 2, 97 (1964)
Academic Press, London - New York

JENNINGS, F.W., WATTS, C., ARMOUR, J.: The pathological biochemistry of fasciolosis.

Wiadomosci Parazytologiczne 14, 543 (1968)

JONES, E.H.: Fascioliasis and Oxyclozanide.

Vet. Rec. 79, 716 (1966)

KENDALL, S.B., PARFITT, J.W.: The chemotherapie of fascioliasis.

Brith. Vet. J. 118, 1 (1962)

KENDALL, S.B., HEBERT, N., PARFITT, J.W., PEIRCE, M.A.:

Resistance to reinfection with Fasciola hepatica in rabbits.

Expl. Parasit. 20, 242 (1967)

KENNETH, L., KUTTLER, M.S.: The effects of freezing and storage at -20° C on serum protein patterns

of sheep as determined by paper electrophoresis.

Am. J. vet. Res. 20, 434 (1959)

KETZ, H.A.: Die Bedeutung und Zusammensetzung der Eiweißfraktionen im Serum und Plasma vom Schaf.

Exper. vet. med. 13, 508 (1959)

KUTTLER, K.L., MARBLE, D.W.: Relationship of serum transaminase to naturally occuring and artificially induced white muscle disease in calves and lambs.

Am. J. vet. Res. 19, 632 (1958)

LÄMMLER, G.: Die Chemotherapie der Fasciolose, zugleich ein Beitrag zur experimentell-chemotherapeutischen Untersuchungsmethodik.

Arzneimittelforschung 5, 497 (1955)

LÄMMLER, G.: Die Chemotherapie der Fasciolose, III. Mitteilung. Über die experimentelle Fasciola hepatica-Infektion der Albinoratte.

Zschr. Tropenmed. Parasit. 10, 379 (1959)

- LÄMMLER, G.: Chemotherapeutische Untersuchungen mit HETOL, einem neuen hochwirksamen Leberegelmittel.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 67, 408 (1960)
- LÄMMLER, G.: Die kombinierte Behandlung des Leberegel- und Magendarmwurmbefalls bei Schafen mit HETOL und PHENOTHIAZIN S.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 68, 169 (1961)
- LÄMMLER, G.: Aufgaben und Wege der modernen Anthelmintica-forschung.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 71, 440 (1964)
- LÄMMLER, G.: Chemotherapie of Trematode-Infections.
In: Advances in Chemotherapie, Vol. 3, 153 (1969)
Academic Press, London - New York
- LUCAS, J.M.S.: 4-Cyano-2-iodo-6-nitrophenol, M & B 10,755 I Activity against experimental fascioliasis in rabbits, sheep and calves.
Brith. vet. J. 123, 198 (1967)
- MALHERBE, W.D.: The value of the determination of transaminase activity in plasma as a screening test for liver disease in animals.
J. South. Afr. vet. med. Ass. 31, 159 (1960)
- MASTERS, C.J., HORGAN, D.J.: Glutamate transaminase activity in sheep tissues and the response to prolonged protein depletion.
Austr. J. biol. Sci. 15, 690 (1962)
- MEYER, H.: Über den Hämatokritwert beim Schaf.
Monatsh. Tierheilk. 15, 306 (1963)
- MITTERPAK, J., HOVORKA, J.: Bemerkungen zur Wirksamkeit und zur klinischen Verträglichkeit des antifasciolosen Präparates Oxyclozanide (Imperial Chem. Industry).
Wiadomosci Parazytologiczne 14, 619 (1968)

- MROZIK, H., JONES, H.: A new agent for the treatment of liver-fluke infection (Fascioliasis).
Experientia 25, 883 (1969)
- NICOLAS, J.A., PESTRE-ALEXANDRE, M., DUPRÉ, C.: Trial of Nitrioxynil for Fasciola hepatica-Infection in sheep.
Bull. Soc. vét. prat. Fr. 52, 38 (1968)
- ONO, J., ISODA, M.: Studies on the Fascioliasis III: Experiment on the artificial infection with metacercaria in rabbits.
Jap. J. vet. Sci. 14, 189 (1952)
- PERK, K., LOBL, K.: Chemical and paperelectrophoretic analysis of normal sheep serum proteins and lipoproteins.
Brith. vet. J. 116, 167 (1960)
- PINKIEWICZ, E., GRZEBULA, S., PIENKOWSKI, M., ZIMOWSKI, A.: Complex investigations of the functional state of the liver-fluke in the course of fluke worm disease in sheep.
Wiadomosci Parazytologiczne 14, 557 (1968)
- REID, J.F.S.: The efficacy of Nitrioxynil in the treatment of naturally occurring ovine fascioliasis.
Vet. Rec. 86, 41 (1967)
- ROBERTS, H.E.: Observations on experimental acute fascioliasis in sheep.
Brith. vet. J. 124, 433 (1968)
- ROSS, J.G.: Experimental infections of cattle with Fasciola hepatica: a comparison of low and high infection rates.
Nature, London 108, 907 (1965)
- ROSS, J.G., TODD, J.R., DOW, C.: Single experimental infections of calves with the liver fluke Fasciola hepatica (Linnaeus 1758).
J. Comp. Path. 76, 67 (1966)

- ROSS, J.G., DOW, C., TODD, J.R.: A study of Fasciola hepatica infections in sheep.
Vet. Rec. 80, 543 (1967)
- ROSSOW, N., RITTENBACH, P., URBANECK, D., WICK, R., KRAUSE, H.:
Biopische und funktionelle Leberuntersuchungen bei der Rinderfasciolose.
Arch. Exp. vet. med. 20, 307 (1966)
- ROY, R.M., REDDY, N.R.: Studies on the activity of Nitroxylin against Fasciola gigantica in naturally infected buffaloes, cattle and sheep.
Vet. Rec. 85, 85 (1969)
- SAMSON, K.S., WILSON, G.I., ALLEN, R.W.: Sheep liver-fluke anthelmintics: preliminary experiments with eight compounds against mature and immature Fasciola hepatica.
Am. J. vet. Res. 30, 807 (1969)
- SCHALM, O.W.: Veterinary Hematology 2nd edition (1965)
Verlag Lea & Febiger, Philadelphia
- SCHMIDT, E., SCHMIDT, F.W.: Über Enzym-Muster im Serum.
Klin. Wschr. 38, 1009 (1960)
- SCHMIDT, E., SCHMIDT, F.W., HERFARTH, Ch.: Isoenzyme in der menschlichen Leber und ihre intracelluläre Lokalisation.
Klin. Wschr. 40, 1133 (1962)
- SCHMIDT, E., SCHMIDT, F.W.: Enzymbestimmungen im Serum bei Lebererkrankungen.
Enzymol. biol. et clin. 3, 1 (1963)
- SCHMIDT, E., SCHMIDT, F.W.: Enzym-Fibel, Biochemische Abteilung
C. F. Boehringer und Söhne GmbH, Mannheim (1966)

- SCHUMACHER, W.: Untersuchungen über den Wanderungsweg und die Entwicklung von Fasciola hepatica L. im Endwirt.
Zschr. f. Parasitenk. 10, 608 (1938)
- SEWELL, M.M.H.: Serum Enzyme Activities in acute ovine fascioliasis.
Vet. Rec. 80, 577 (1967)
- SHIRAI, M.: The biological observation on the cysts of Fasciola hepatica and the route of migration of young worms in the final host.
Sci. Rep. Gov. Inst. Inf. Dis., Tokyo 6, 511 (1927)
- SINCLAIR, K.B.: Observations on the clinical pathology of ovine Fascioliasis.
Brith. vet. J. 118, 37 (1962)
- SINCLAIR, U.B.: Studies on the anaemia of ovine fascioliasis.
Br. vet. J. 120, 212 (1964)
- SINCLAIR, K.B.: Pathogenesis of Fasciola and other liver-flukes.
Helminth. Abstr. 36, 115 (1967)
- SINCLAIR, U.B.: The effect of splenectomy on the pathogenicity of Fasciola hepatica in the sheep.
Br. vet. J. 126, 15 (1970)
- SINIT SIN, D.: Neue Tatsachen über die Biologie der Fasciola hepatica L.
Zbl. f. Bakt. I, Abt. Originale 74, 280 (1914)
- SYMONS, L.E.A., BORAY, J.C.: Anaemia of ovine fascioliasis.
Vet. Rec. 81, 130 (1967)
- SYMONS, L.E.A., BORAY, J.C.: The anaemia of acute and chronic ovine fascioliasis.
Zschr. Tropenmed. & Parasit. 19, 451 (1968)

- TAYLOR, E.L.: Fascioliasis and the liver-fluke.
FAO Agric. Studies 64, 234 (1964)
- TEWARI, H.C.: Comparative efficiency of Hexachloraethan
and Clioquinide against Fasciola hepatica in
the rat.
Austr. vet. J. 44, 401 (1968)
- THORPE, E.: Liver damage and the host-parasite relationship
in experimental Fascioliasis in the albino rat.
Res. vet. Sci. 6, 498 (1965)
- THORPE, E.: The pathology of experimental Fascioliasis in
the albino rat.
J. comp. Path. 75, 39 (1965 a)
- TODD, A.C., WYATT, Z.N., STONE, W.M., ELAM, G.W.: On the
blood picture of healthy Southdown and
Hamshire Ewes.
Am. J. vet. Res. 13, 74 (1952)
- UENO, H., WATANABE, S., FUJITA, J.: Comparison of the
anthelmintic effects of chlorinated diphenyl-
sulfides and their methan dervates on the
liver fluke Fasciola gigantica of rabbits
and sheep.
Nat. Inst. anim. Hlth. Quart., Tokyo 4, 158
(1964)
- ULLREY, D.E.: Sheep Hematology from birth to maturity.
J. An. Sci. 24, 141 (1965)
- URQUHART, G.M.: The pathology of experimental Fascioliasis
in the rabbit.
J. Path. Bact. 71, 301 (1956)
- VAUGHAN, J.J.: Preliminary field trials with Oxyclozanide,
a new fasciolicide.
Vet. Rec. 79, 720 (1968)

- WAGNER, A.M., BROWN, J.M.M.: Contributions to the study of blood constituents in domestic animals in South Africa. 2. Normal values for the activity of some enzymes of the Embden-Meyerhof-pathway and tricarboxylic acid-cycle occurring in the plasma of sheep.
Onderstepoort J. vet Res. 33, 325 (1966)
- WALLEY, J.K.: Oxyclozanide (3,3',5,5',6-pentachloro-2,2'-dihydroxy-benzanilide "ZANIL") in the treatment of the liver-fluke Fasciola hepatica in sheep and cattle.
Vet. Rec. 78, 267 (1966)
- WILSON, G.J.: Serum protein changes in lambs and kids to Dictyocaulus filaria.
J. Parasit. 47, 20 (1961)

Herrn Professor Dr. G. Lämmle danke ich aufrichtig für die Überlassung des Themas und die mir stets gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Lebenslauf

Am 10.11.1940 wurde ich, Jürgen Thyssen, als Sohn des Arztes Dr. Karl-Adolf Thyssen und seiner Ehefrau Käthe, geb. Pfeifer, in Bonn geboren.

Von 1946 bis 1950 besuchte ich die Volksschule in Bonn und von 1950 bis 1962 das Staatliche Gymnasium in Wissen/Sieg, an welchem ich 1962 die Reifeprüfung ablegte.

Im Jahre 1962 nahm ich das Studium der Veterinärmedizin an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Justus Liebig-Universität in Gießen auf, das ich 1968 mit der Tierärztlichen Prüfung erfolgreich abschloß.

Nach Beendigung meiner Praktikantenzeit bei Herrn Dr. Harth in Allendorf/Lda. erhielt ich im November 1968 die Approbation als Tierarzt.

Seit Dezember 1968 bin ich als Hilfsassistent, seit November 1969 als Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle am Institut für Parasitologie und parasitäre Krankheiten der Tiere tätig.

